

CARPENITO S.

DE VITO V.

DELLA PORTA D.

DELLA PORTA E.

GIULIANO G.

RAIMO S.

B i O T r i N e

Biotechnologie nella difesa delle
colture di eccellenza in Campania:
Trichoderma in limonicoltura e
Nematodi entomopatogeni in castanicoltura

edizioni oasis

*Quando si diviene consapevoli che la gioia e la felicità vengono perse nello sforzo di possederle,
si arriva all'essenza dell'agricoltura naturale.
Il fine ultimo dell'agricoltura non è far crescere il raccolto, ma la coltivazione e il perfeziona-
perfezionamento dell'essere umano.*

“The one-straw Revolution”- Masanobu Fukuoka

Introduzione

La Oasis srl Centro Ricerche & Sviluppo da sempre si occupa anche di “agricoltura ecocompatibile”.

Questo saggio scientifico è la conclusione di un progetto finanziato interamente dalla Oasis srl, convinta che il futuro dell'agricoltura tecnologica debba essere fortemente legato al benessere dei consumatori.

Diserbanti e concimi chimici lasciano nelle acque delle nostre campagne una pesante eredità, le dimensioni sempre più preoccupanti di un fenomeno già conosciuto e combattuto non soltanto da presunti oltranzisti della difesa dell'ambiente, ma da tante persone comuni, che hanno a cuore la propria salute e quella dei propri figli, oltre che il bene collettivo.

La salvaguardia di colture importanti, non solo per il nostro territorio ma per tutta l'umanità, le castagne campane e i limoni della costiera amalfitana, per il loro valore agricolo e culturale, è l'impegno della Oasis.

Siamo convinti che l'utilizzo di tecniche ecosostenibili possa contemplare un giusto reddito per gli agricoltori e la tranquillità alimentare per i consumatori oltre al loro benessere.

Il progetto BIO.TRI.NE rappresenta lo sforzo per valutare due tecniche:

- Il controllo di parassitoidi dannosi al castagno, tramite l'utilizzo di nematodi entomopatogeni, nello specifico, per l'abbattimento di infestanti quali le cydie.*
- La micorrizzazione, associazione simbiotica tra “trichoderma spp” ed una pianta superiore, localizzata nell'ambito dell'apparato radicale del simbionte vegetale nella rizosfera e nel terreno circostante. Questa simbiosi è di tipo mutualistico, per cui i due organismi portano avanti il loro ciclo vitale vivendo a stretto contatto e traendo benefici reciproci, sia di natura nutrizionale che di altro tipo.*

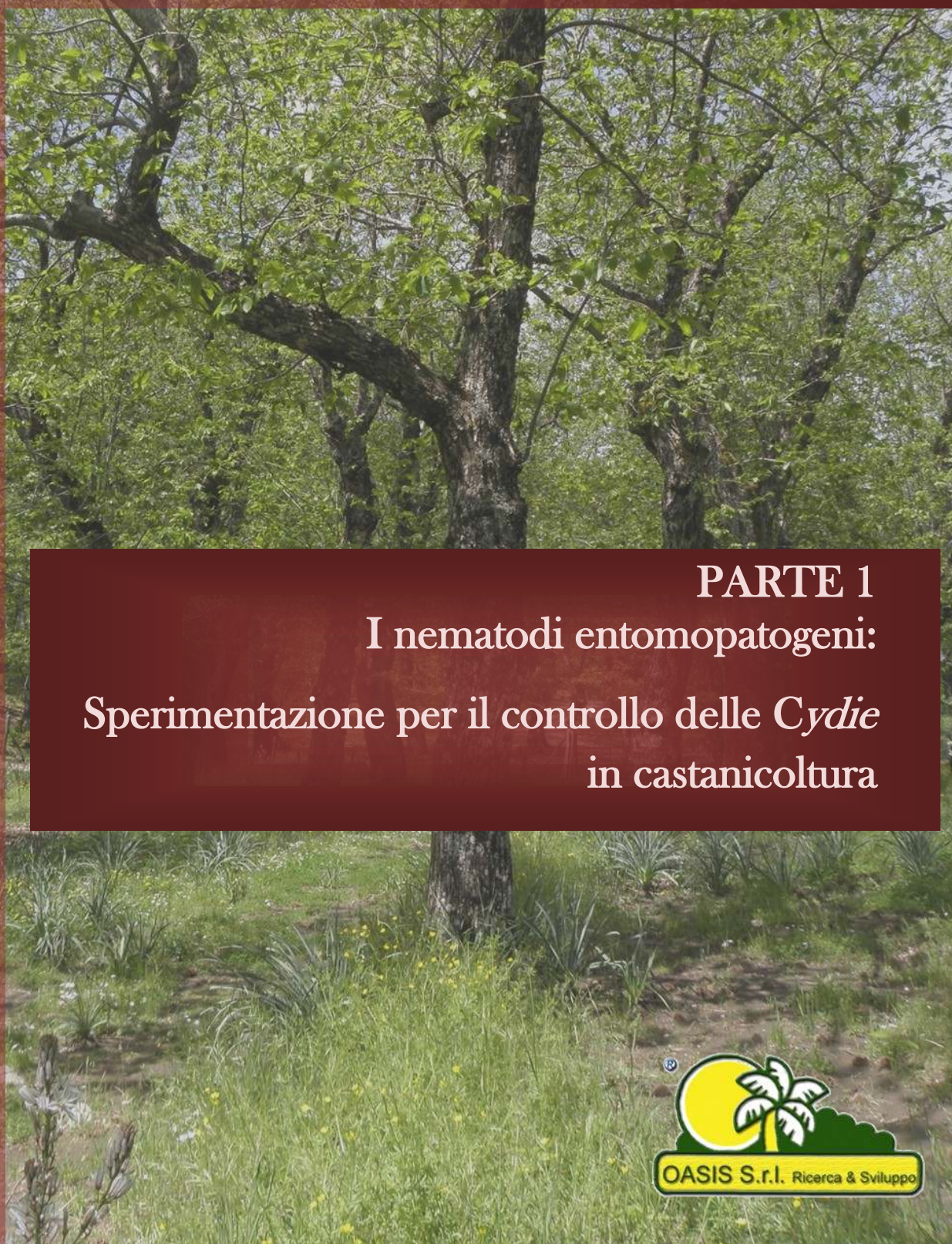
Gli studi scientifici a cui si è attinto in una prima fase sono molti e di diversa estrazione e anche le conclusioni del nostro lavoro sono positive, le metodiche utilizzate rappresentano un importantissimo passo avanti.

La passione e la curiosità degli attori di questo lavoro guideranno le scelte innovative della Oasis nel prossimo futuro.

*Patrizio Della Porta**

* Amministratore unico della Oasis srl centro di ricerche

Biotecnologie nella difesa delle colture di
eccellenza in Campania:
Trichoderma in limonicoltura e
Nematodi entomopatogeni in castanicoltura



PARTE 1

I nematodi entomopatogeni:

Sperimentazione per il controllo delle *Cydia*
in castanicoltura

Sommario

Premessa	3
<i>I numeri della castanicoltura</i>	4
La castagna nel mondo	5
La produzione in Europa	6
La produzione in Italia	7
La produzione in Campania	10
La provincia di Avellino	10
La provincia di Salerno	11
Le province di Caserta, Benevento e Napoli	11
<i>Il Castagno: attività agronomiche</i>	12
Potatura	13
Potatura di rimonda	14
Potatura di riduzione	15
Potatura di riforma	15
Potatura di mantenimento	15
Capitozzatura	16
Concimazioni organiche	16
Concimazioni fogliari aeree	17
Monitoraggio degli insetti infestanti	17
Pulizia del sottobosco e regimazione delle acque	18
Irrigazione di soccorso	18
I cambiamenti climatici	19
Pulizia del sottobosco pre e post raccolta	19
Raccolta delle castagne e primo stoccaggio	20
Trattamenti in regime di coltivazione biologica	20
Trattamenti rameici	20
Nematodi entomopatogeni	21
Confusione sessuale delle cydie: sperimentazione in fase avanzata	21
Trattamenti in regime di coltivazione integrata	21
<i>Il Castagno: problematiche fitosanitarie</i>	22
Il Cinipide Galligeno del Castagno	23
Come si riconosce	23
Come si monitora	23
Come si combatte	23
Le Cidie	24
<i>Pammene fasciana</i> : Tortrice precoce delle castagne	24
<i>Cydia fagiglandana</i> : Tortrice intermedia delle castagne	25
<i>Cydia splendana</i> : Carpocapsa delle castagne	25
Come si monitorano	26

Come si combattono _____	26
Il Balanino _____	26
Come si riconosce _____	26
Come si monitora _____	27
Come si combatte _____	27
Gli attacchi fungini _____	27
<i>Gnomoniopsis</i> (Marciume delle castagne) _____	27
Fersa (Nebbia delle castagne) _____	28
Cancro della corteccia _____	28
Mal dell'inchiostro _____	29
Marciume radicale _____	29
<i>Lotta biologica con nematodi entomopatogeni</i> _____	31
I nematodi _____	32
I nematodi entomopatogeni _____	34
Ciclo di vita _____	34
Fattori edafici _____	36
Efficacia relativa e parametri di applicazione _____	37
Habitat e Infestanti ospiti _____	37
<i>Sperimentazione con nematodi entomopatogeni per il controllo delle cydie</i> _____	39
Materiali e metodi _____	40
Risultati _____	42
Conclusioni _____	45
<i>BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA</i> _____	56

Premessa

Il castagno è una coltura che caratterizza profondamente alcune aree interne della Campania.

La Oasis Srl si impegna nel campo del castagno da svariati anni e con questo lavoro vuole approfondire una problematica fitosanitaria importante con metodi di “lotta biologica”

L'analisi delle statistiche ISTAT di tipo forestale assegna alla Campania una superficie complessiva investita a castagno pari a poco più di 30.000 ettari, corrispondente a circa l'8% della superficie nazionale. L'Istat stima che di questi la superficie destinata alla produzione frutticola sia l'80%, pari quindi a circa 24.000 ettari.

In Campania sono state censite circa 13.000 aziende agricole con appezzamenti a castagno (1/5 del totale nazionale pari a circa 66.000) che, coprendo complessivamente circa 16.000 ettari, conducono più del 20% della superficie agricola nazionale investita a castagno. I dati del Censimento (anno 2000) consentono di rilevare anche la distribuzione della castanicoltura da frutto nelle province campane. Questa interessa principalmente, in ordine di importanza in termini di aziende e superficie investita, le province di Salerno, Avellino e Caserta dove si concentrano il 93% della superficie e il 97% delle aziende. Prima dell'arrivo del Cinipide in Italia, la Campania deteneva un primato non solo nella produzione castanicola nazionale, ma anche in quella mondiale. Il 60% della produzione castanicola nazionale è, infatti, assegnato alla Campania, e tale produzione rappresenta il 10% della produzione mondiale.

L'emergenza fitosanitaria in corso ha, però, arrecato danni consistenti all'intera filiera castanicola campana e nazionale.

Nel 2014, purtroppo, la castanicoltura campana ha registrato un nuovo record negativo, con una perdita produttiva che ha toccato il picco del 90% in vaste aree della Regione.

Tra le prime cause dell'emergenza fitosanitaria in corso, è da annoverare il Cinipide galligeno del castagno, a cui seguono le infestazioni dovute ai parassiti endogeni delle colture castanicole campane e i cambiamenti climatici in corso in questa fase storica.

La stima dell'ultimo anno sulle perdite economiche della castanicoltura campana è superiore a 50 milioni di euro per la sola PLV agricola.

Le biotecnologie nella difesa delle colture e, in particolare, delle colture di eccellenza della Regione Campania sono una delle vie da percorrere per il risollevarlo del settore castanicolo campano.

Il progetto BioTriNe volge la sua attenzione proprio allo studio delle dinamiche di azione e, soprattutto, alla risposta del castagno all'utilizzo di nematodi entomopatogeni, nello specifico, per l'abbattimento di infestanti quali le cydie.

CAPITOLO 1

I numeri della castanicoltura

La castagna nel mondo

La produzione mondiale castanicola si concentra in due macroaree: l'area sud asiatica con Cina, Giappone, Corea del Nord e Corea del Sud da cui proviene circa il 80% della produzione, e l'area europea con Turchia, Italia, Portogallo, Grecia, Spagna e Francia, con 16% (Fao, 2008). Il resto della produzione viene ad essere diviso tra Stati Uniti, Cile e Australia (Figura 1).

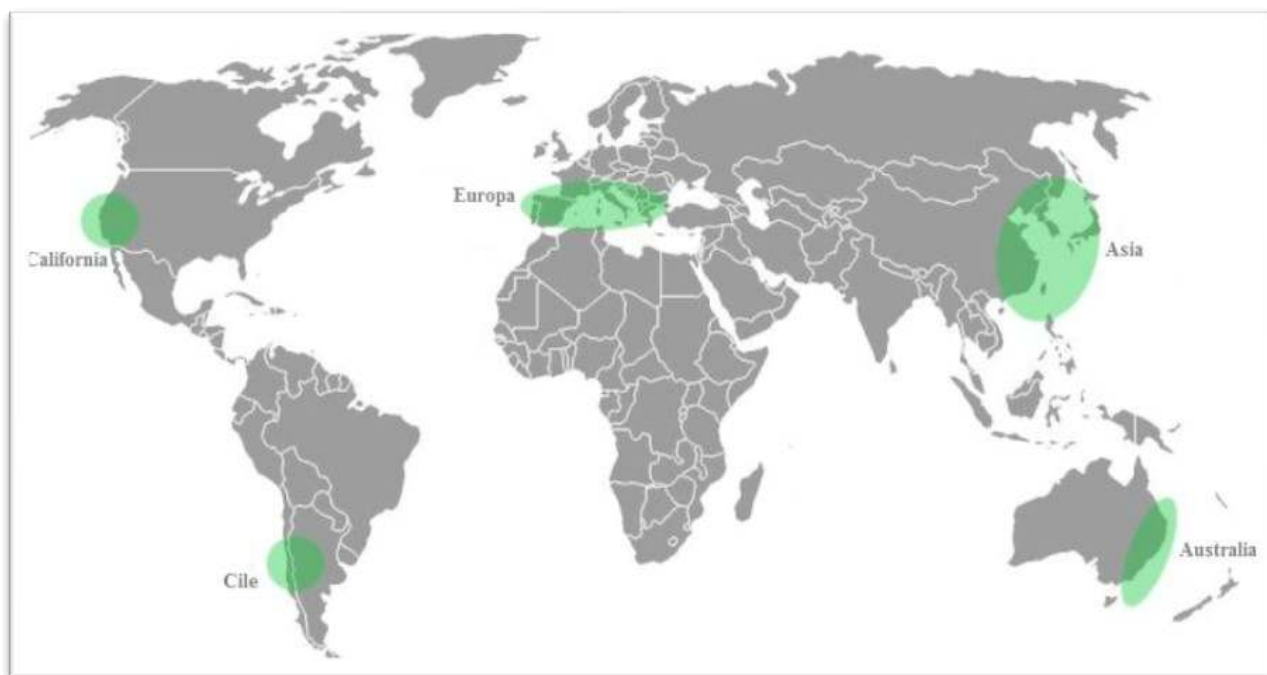


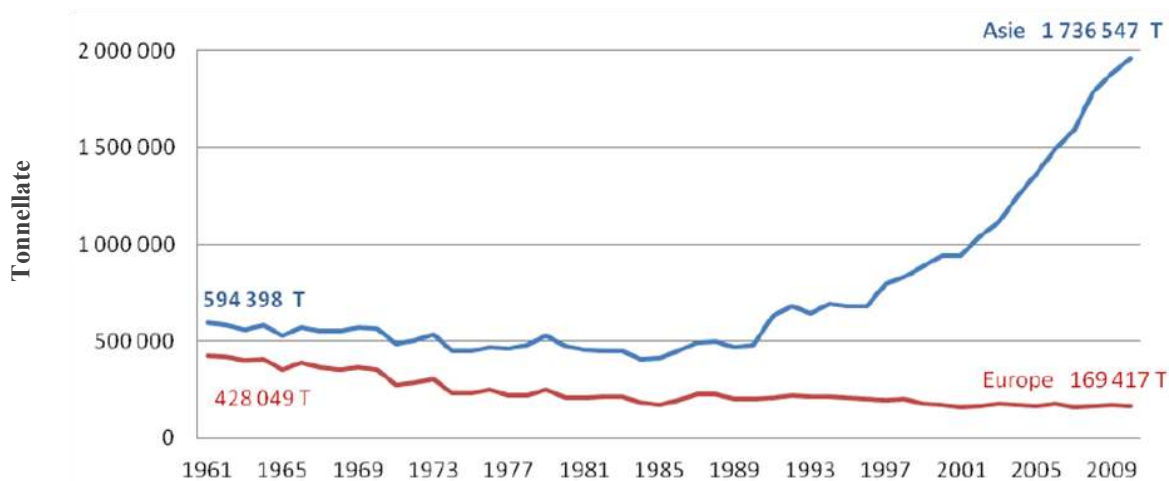
Figura 1 Aree mondiali di produzione castanicola

Nella zona sud asiatica si coltivano le specie *Castanea crenata* Siebold e Zucc.- castagno giapponese e *Castanea mollissima* Blume - castagno cinese. In Europa, invece, nelle coltivazioni è prevalentemente presente la specie *Castanea sativa* Miller, con poche zone, come il sud della Francia dove vengono coltivati ibridi euro giapponesi (maggiore pezzatura ma inferiore qualità). La diversità delle specie coltivate fa sì che le caratteristiche organolettiche dello stesso prodotto castanicolo varino a secondo della macroarea di provenienza (Piano del settore castanicolo, 2010/2013).

Dopo circa trenta anni di stazionarietà, la produzione castanicola, dal 1990 al 2008, ha registrato una crescita, attribuibile esclusivamente all'aumento della produzione cinese.

Nel 2010, si è attestata una produzione mondiale di circa 1.900.000 tonnellate, derivante quasi esclusivamente dalle due macroaree (Grafico 1) (A.R.E.F.L.H., 2012).

Grafico 1 Andamento della produzione castanicola mondiale (1960-2010) (A.R.E.F.L.H., 2012)



La produzione in Europa

I dati Eurostat per il 2010 attestano che la produzione europea di castagne è quantificata in circa 163.200 tonnellate (Figura 2). Durante il diciannovesimo secolo, si ebbe un aumento costante della produzione castanicola nel vecchio continente durato fino agli anni '60, quando regredì a causa di problematiche fitosanitarie. Fino ad allora la castagna aveva costituito una delle risorse di sostentamento più importanti per le popolazioni rurali, sostituita ad oggi da alimenti come le patate ed i cereali.

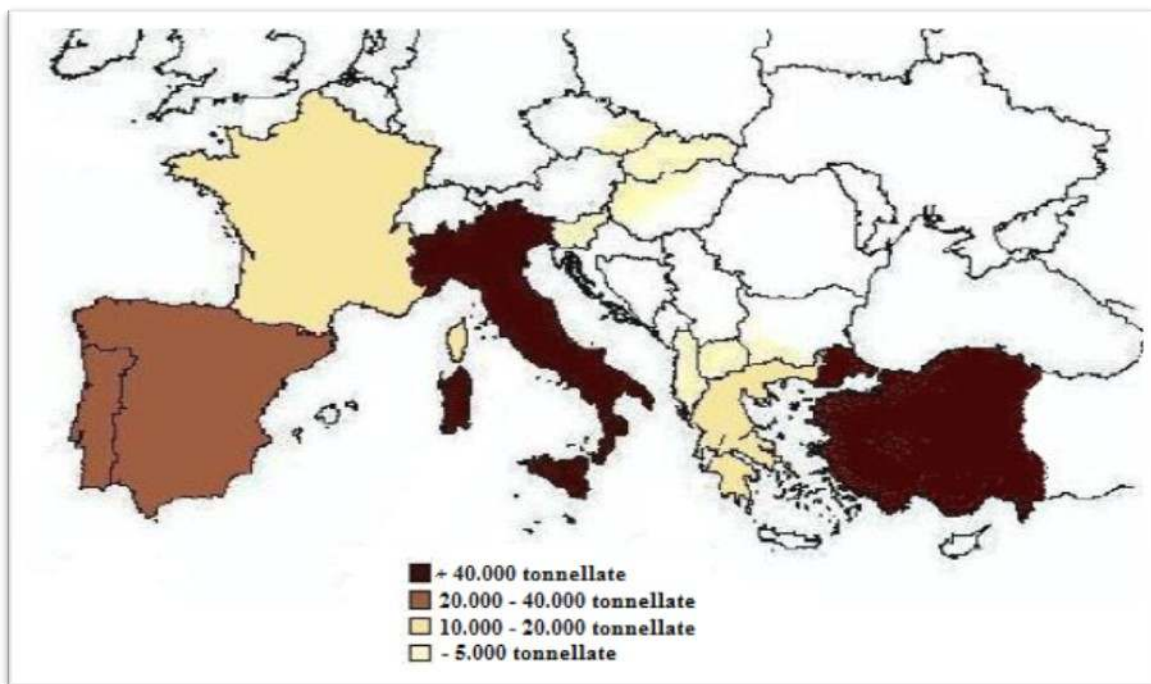


Figura 2 Produzione castanicola europea (Eurostat, 2010)

Ad oggi, il comparto castanicolo europeo protagonista di una forte battuta di arresto a seguito della comparsa sul territorio di un parassita esotico, il Cinipide galligeno del castagno (*Dryocosmus kuriphilus*) che ha portato ad una drastica riduzione delle produzioni.

Originario della Cina, il Cinipide è stato scoperto in Italia nel 2002 e, da qui, si è poi diffuso in Francia, Spagna, Portogallo, Ungheria, Slovenia, Svizzera e Grecia, provocando ingenti danni all'economia castanicola europea (Tabella 1).

Tabella 1 Evoluzione della produzione castanicola europea (000 tonnellate) (A.R.E.F.L.H., 2012)

	'61	'65	'70	'75	'80	'85	'90	'95	2000	'02	'05	'08	'09	'10
Francia	71,2	82,4	47,6	39,2	24,4	14,2	13,5	11,0	13,2	11,2	8,1	6,3	8,7	9,5
Grecia	12,6	41,6	17,4	16,2	14,3	10,3	10,8	12,5	13,2	12,4	12,3	9,8	11,0	11,0
Italia	123,8	86,5	66,4	69,3	63,4	38,8	49,5	71,9	50,0	54,3	52,0	55,0	52,1	42,7
Portogallo	82,0	47,0	91,6	32,7	20,2	17,0	20,4	23,2	33,3	31,4	22,3	22,0	20,7	22,4
Spagna	99,0	88,0	81,0	25,0	24,3	27,5	23,6	20,1	19,2	19,3	18,6	15,0	16,0	18,6
Turchia	38,4	33,0	48,0	47,0	58,5	59,0	80,0	77,0	50,0	47,0	50,0	55,3	61,7	59,1
U.E.	388,6	318,5	304,0	182,4	146,6	107,8	117,8	138,7	128,98	128,6	113,3	108,1	108,5	104,2
Europa	427,0	351,5	352,0	229,4	205,1	166,87	197,8	215,7	178,9	175,6	163,3	163,4	170,2	163,3

Ad oggi, a fronte di interventi mirati all'abbattimento della popolazione del Cinipide galligeno del castagno mediante introduzione del suo antagonista naturale, il *Torymus sinensis*, secondo i dettami della lotta biologica, si registra una ripresa del settore castanicolo.

La produzione in Italia

L'Italia, nella compagine castanicola, occupa un posto di primo piano a livello europeo, essendo stata ed essendo uno dei maggiori Stati produttori.

La produzione italiana degli ultimi anni si è attestata tra le 40.000 e le 50.000 tonnellate annue, di cui l'88% derivanti dalla produzione di castagne ed il 12% dalla produzione di marroni.

La superficie investita nella castanicoltura si concentra maggiormente nelle regioni centrali e meridionali italiane. La Campania è la prima regione a cui seguono la Calabria, la Toscana, il Piemonte, il Lazio, l'Abruzzo e l'Emilia Romagna (A.R.E.F.L.H., 2012).

I dati del VI censimento generale dell'agricoltura italiana del 2010 hanno individuato 30.252 aziende impegnate nella castanicoltura per una superficie complessiva di superficie agricola utilizzata (SAU) pari a 56.800,54 ettari. Le aziende dedite alla produzione castanicola sono per lo più aziende comprese nella classe di superficie agricola utilizzata da 2 a 4,99 ettari, circa il 70% (Tabelle 2 e 3).

Tavola 2.10 - Aziende con coltivazioni legnose agrarie e relativa superficie investita per le principali coltivazioni praticate e per classe di superficie agricola utilizzata (SAU) (superficie in ettari)

COLTIVAZIONI	CLASSI DI SUPERFICIE AGRICOLA UTILIZZATA										Totale
	Fino a 0,99	1 -- 1,99	2 -- 4,99	5 -- 9,99	10 -- 19,99	20 -- 49,99	50 -- 99,99	100 ed oltre			
AZIENDE											
COLTIVAZIONI LEGNOSE AGRARIE	422.116	254.420	258.759	123.396	71.485	44.101	12.076	5.728	1.192.081		
Vite	90.829	75.313	103.401	57.686	34.474	19.888	4.926	2.364	388.881		
Olivio per la produzione di olive	343.208	200.701	185.930	82.763	46.986	29.978	8.448	4.061	902.075		
Da tavola	3.284	2.389	2.627	1.330	855	597	173	92	11.347		
Per olio	341.206	199.312	184.451	82.124	46.601	29.744	8.386	4.026	895.850		
Agrumi	27.523	18.474	17.763	7.722	4.282	2.630	801	394	79.589		
Arancio	18.635	13.054	13.356	6.069	3.448	2.180	657	325	57.724		
Mandarino	5.328	3.472	3.305	1.399	823	507	165	84	15.083		
Clementina e suoi ibridi	3.348	2.993	3.148	1.561	974	651	209	112	12.996		
Limone	8.421	4.557	3.690	1.358	736	436	127	64	19.389		
Altri agrumi	1.515	1.168	1.238	609	382	259	89	48	5.308		
Frutiferi	54.663	49.028	63.667	33.946	19.510	11.164	2.829	1.413	236.240		
Frutta fresca di origine temperata	33.136	27.753	37.356	21.344	12.471	6.889	1.649	776	141.374		
Melo	12.102	9.468	13.647	7.825	4.397	2.374	557	255	50.625		
Pero	6.203	5.168	7.075	4.996	3.631	2.297	608	259	30.237		
Pesco	7.263	7.186	11.630	7.740	4.786	2.543	514	220	41.882		
Nettarina (pesca noce)	758	1.138	2.766	2.675	2.010	1.080	210	88	10.725		
Albicocco	5.288	4.810	6.829	4.423	2.621	1.409	332	136	25.848		
Ciliegio	9.246	8.833	10.872	5.544	3.059	1.517	365	159	39.595		
Susino	4.040	3.813	5.694	3.794	2.345	1.262	289	129	21.366		
Fico	6.022	4.424	4.256	1.524	745	391	111	42	17.515		
Altra frutta	7.574	5.519	6.427	3.372	2.025	1.232	368	193	26.710		
Frutta fresca di origine sub-tropicale	2.151	2.264	3.536	2.788	1.973	1.251	221	109	14.293		
Actinidia (kiwi)	1.325	1.732	2.927	2.425	1.778	1.099	195	84	11.565		
Altra frutta	848	555	623	385	201	164	30	26	2.832		
Frutta a guscio	24.959	24.955	30.858	14.679	8.115	4.859	1.340	719	110.484		
Mandorlo	8.359	8.490	9.914	4.701	2.862	1.883	473	204	36.886		
Nocciolo	7.863	7.915	9.503	4.312	1.978	1.024	297	103	32.995		
Castagno	5.382	6.366	9.226	4.700	2.527	1.342	399	310	30.252		
Noce	3.493	3.268	3.912	1.841	1.009	544	137	98	14.302		
Altra frutta	2.182	1.587	1.766	954	737	667	187	70	8.150		
Vivali	2.856	1.946	2.594	1.502	1.057	630	155	104	10.844		
Frutiferi	478	374	446	281	212	160	36	27	2.014		
Piante ornamentali	2.353	1.523	1.851	895	504	242	57	34	7.459		
Altri	475	385	713	545	468	312	75	56	3.029		
Altre coltivazioni legnose agrarie	794	907	1.285	823	540	469	180	104	5.082		
Coltivazioni legnose agrarie in serra	254	170	309	135	85	48	11	14	1.026		

Tabella 3Superficie investita a castagno per classe di superficie agricola utilizzata delle aziende (Tavola 2.10 VI censimento generale dell'agricoltura 2010)

Tavola 2.10 segue - Aziende con coltivazioni legnose agrarie e relativa superficie investita per le principali coltivazioni praticate e per classe di superficie agricola utilizzata (SAU) (superficie in ettari)												
COLTIVAZIONI	CLASSI DI SUPERFICIE AGRICOLA UTILIZZATA										Totale	
	SUPERFICIE INVESTITA											
	Fino a 0,99	1 -- 1,99	2 -- 4,99	5 -- 9,99	10 -- 19,99	20 -- 49,99	50 -- 99,99	100 ed oltre				
COLTIVAZIONI LEGNOSE AGRARIE												
Vite	206.645,05	267.680,18	490.347,28	403.806,68	361.364,16	340.858,09	157.962,58	152.104,52	2.380.768,54			
Olio per la produzione di olive	26.062,44	44.607,46	121.047,92	128.299,02	124.464,01	115.577,05	48.912,31	55.325,97	664.296,18			
Da tavola	155.738,22	175.788,69	249.651,47	160.423,85	130.400,36	125.926,09	65.623,51	59.777,50	1.123.329,69			
Per olio	1.067,23	1.513,71	2.922,13	2.346,23	2.113,52	2.062,44	855,90	744,95	13.626,11			
Agrumi	154.670,99	174.274,98	246.729,34	158.077,62	128.286,84	123.863,65	64.767,61	59.032,55	1.109.703,58			
Arancio	8.907,53	13.635,37	26.418,50	21.230,62	20.051,83	21.235,49	10.245,82	7.195,91	128.921,07			
Mandarino	4.954,15	7.880,81	16.223,70	13.282,80	12.554,79	13.758,86	6.460,49	4.435,41	79.551,01			
Clementina e suoi ibridi	740,46	1.033,87	1.825,09	1.402,23	1.276,70	1.280,83	602,65	319,17	8.481,00			
Limone	1.029,35	2.016,78	4.074,47	3.395,90	3.419,01	3.526,16	1.982,75	1.471,84	20.916,26			
Altri agrumi	1.927,43	2.262,37	3.432,28	2.396,82	2.116,81	1.957,79	685,04	645,94	15.424,48			
Fruttiferi	256,14	441,54	862,96	752,87	684,52	711,85	514,89	323,55	4.548,32			
Frutta fresca di origine temperata	14.679,26	31.465,96	87.800,33	88.324,85	79.950,56	70.221,31	28.484,50	23.377,02	424.303,79			
Melo	7.151,17	13.986,90	43.099,43	48.009,20	44.495,81	37.720,40	13.453,62	11.507,40	219.423,93			
Pero	2.345,52	4.066,42	14.192,52	13.813,64	9.183,48	6.803,46	2.235,42	2.090,60	54.731,06			
Pesco	343,65	752,11	3.130,12	5.919,63	7.922,94	8.135,80	3.370,21	2.966,95	32.541,41			
Nettarina (pesca noce)	879,54	2.348,65	8.792,13	10.881,42	10.349,66	8.129,70	2.640,60	2.374,92	46.396,62			
Albicocco	105,47	403,92	2.180,94	3.904,74	5.371,48	4.912,63	1.590,69	1.088,17	19.558,04			
Chiliegio	535,23	1.141,78	3.319,51	3.667,42	3.452,29	2.927,59	1.067,50	713,78	16.825,10			
Susino	1.288,52	2.775,19	6.128,09	5.037,34	4.005,64	2.827,46	928,96	637,43	23.628,63			
Fico	317,33	711,67	2.072,41	2.409,01	2.295,25	2.167,04	820,60	877,96	11.671,27			
Altra frutta	371,89	550,63	974,43	519,39	399,01	335,59	70,18	118,25	3.339,37			
Frutta fresca di origine sub-tropicale	964,02	1.236,53	2.309,28	1.856,61	1.516,06	1.481,13	729,46	639,34	10.732,43			
Actinidia (kiwi)	589,85	1.433,01	4.451,92	6.060,50	6.270,76	6.136,67	2.186,72	1.455,63	28.585,06			
Altra frutta	455,08	1.221,29	3.937,76	5.587,60	5.825,30	5.377,85	2.073,54	1.222,48	25.700,90			
Frutta a guscio	134,77	211,72	514,16	472,90	445,46	758,82	113,18	233,15	2.884,16			
Mandorlo	6.938,24	16.046,05	40.248,98	34.255,15	29.183,99	26.364,24	12.844,16	10.413,99	176.294,80			
Nocciolo	1.613,90	3.676,06	8.322,47	7.021,71	6.558,88	5.951,24	2.966,07	1.361,05	37.471,38			
Castagno	2.868,44	6.533,51	16.190,32	13.330,58	9.935,58	9.146,21	4.644,49	1.568,41	64.217,54			
Noce	1.435,31	4.155,08	12.176,02	11.149,24	9.873,91	8.073,40	3.834,70	6.102,88	56.800,54			
Altra frutta	490,94	996,33	2.245,86	1.729,84	1.498,98	1.261,49	549,07	751,92	9.524,43			
Vitali	529,65	685,07	1.314,31	1.023,78	1.316,64	1.931,90	849,83	629,73	8.280,91			
Fruttiferi	1.027,61	1.689,56	4.068,70	4.121,77	4.985,16	5.191,50	2.982,51	3.510,39	27.577,20			
Plante ornamentali	88,00	147,77	321,26	385,89	628,48	862,55	562,66	599,24	3.595,85			
Altri	832,05	1.347,91	3.073,62	2.691,25	2.578,21	2.511,36	1.422,35	1.432,90	15.889,65			
Altre coltivazioni legnose agrarie	107,56	193,88	673,82	1.044,63	1.778,47	1.817,59	997,50	1.478,25	8.091,70			
Coltivazioni legnose agrarie in serra	192,04	450,34	1.210,35	1.304,40	1.413,58	2.570,67	1.632,34	2.855,15	11.628,87			
	37,95	42,80	150,01	102,17	98,66	135,98	81,59	62,58	711,74			

L'Italia conta, tra marroni e castagne, 9 certificazioni IGP (il marrone della Val di Susa IGP e la castagna di Cuneo IGP in Piemonte, il marrone di Combai IGP e il marrone di Monfenera IGP in Veneto, il marrone di Castel del Rio IGP in Emilia Romagna, il marrone del Mugello IGP e la castagna del Monte Amiata in Toscana, il Marrone di Roccadaspide IGP e la Castagna di Montella IGP in Campania) e 3 certificazione DOP (il marrone di San Zeno in Veneto, il marrone di Caprese Michelangelo in Toscana, la castagna di Vallerano in Lazio) (MIPAAF, 2015).

La produzione in Campania

Il castagno è una coltura che caratterizza profondamente alcune aree interne della Campania.

Una valutazione precisa dell'articolazione della castanicoltura in Campania non è agevole in quanto le fonti disponibili danno informazioni non direttamente confrontabili.

Nello scenario nazionale, la Campania detiene il primato per la produzione italiana, rappresentandone circa il 50%.

Le realtà castanicole campane si concentrano, per numero di aziende e superficie investita nella castanicoltura, nelle provincie di Salerno, Avellino e Caserta (circa il 93% della superficie e il 97% della produzione) (Cristinzio G. e Testa A., 2006; Assessorato Agricoltura - Regione Campania; Ingino A., Ingino M., Della Porta D., Della Porta P., 2006).

La provincia di Avellino

La provincia di Avellino presenta una complessa articolazione delle aree produttive e un'organizzazione della filiera castanicola più matura rispetto alla realtà regionale. I comprensori castanicoli avellinesi sono quattro: Montella, Serino, Partenio, Vallo di Lauro-Baianese.

Il distretto di Montella (zona di produzione della castagna di Montella IGP) è l'areale di maggiore estensione con circa 3.000 ettari investiti a castagneto. I comuni rientranti nel distretto sono Montella (dove si concentrano i 2/3 della superficie totale dell'IGP), Bagnoli Irpino, Cassano Irpino, Nusco, Volturara Irpina e parte del comune di Montemarano. In questo distretto, la cultivar quasi esclusivamente presente è la Palummina. Negli anni passati, la produzione, destinata per quasi il 50% all'essiccazione ad opera degli operatori sul territorio, si è attestata tra le sette e le otto mila tonnellate, in drastica diminuzione a causa del cinipide, delle avversità meteorologiche e delle problematiche fitosanitarie aggravate da queste.

Il secondo distretto, in termini di superficie, è quello serinese con circa 2.400 ettari dedicati e una produzione dell'ultimo quinquennio prima della crisi intorno alle 2.000/3.000 tonnellate, destinato per il 50% all'esportazione e per il 50% ripartito equamente tra la trasformazione ed il consumo fresco. L'areale della castagna di Serino, in attesa dell'approvazione della certificazione IGP, comprende 14 comuni della Provincia di Avellino e 8 della Provincia di Salerno. Le cultivar presenti sono la Montemarano (o Santimango) e la Verdole.

Negli ultimi due comparti, quello del Partenio e della Valle di Lauro-Baianese, la produzione castanicola riveste un'importanza minore rispetto a quella delle zone di Montella e Serino.

Nella provincia avellinese si concentrano 15 impianti di trasformazione a capacità produttiva differenziata. Infatti, sono presenti aziende dalle dimensioni collocabili ai vertici delle aziende di trasformazione nazionali. Inoltre, ad essere differenziata nella provincia è anche la destinazione delle lavorazioni effettuate. Due delle aziende presenti sul territorio arrivano alla realizzazione di prodotti finiti, mentre la maggioranza produce semilavorati destinati all'industria dolciaria ed alimentare. I dati forniti collocano il distretto produttivo/di trasformazione di Avellino tra i più importanti a livello nazionale, lavorando, oltre che i prodotti provenienti dai territori dei suoi comparti produttivi, anche le castagne provenienti da altre regioni.

La provincia di Salerno

La provincia di Salerno è, per superficie dedicata alla castanicoltura e numero di aziende castanicole, la prima provincia campana.

La castanicoltura salernitana è concentrata, sostanzialmente, in due zone: una a nord, al confine con l'Irpinia dove, oltre agli 8 comuni che ricadono nell'areale di produzione della Castagna di Serino, la coltivazione si estende intorno a Giffoni Valle Piana; un'altra in prossimità del Cilento, intorno al comune di Roccadaspide. Le varietà più pregiate e maggiormente coltivate fuori dalle aree della Castagna di Serino sono il Marrone di Roccadaspide e il Marrone di Susa.

Nonostante il notevolissimo potenziale produttivo, la filiera castanicola della provincia appare meno sviluppata in termini di attività di trasformazione e rapporti diretti con il mercato rispetto a quanto avviene nella vicina provincia di Avellino.

Le province di Caserta, Benevento e Napoli

Nella provincia di Caserta vengono coltivate prevalentemente castagne, con quantità esigue di marroni. La coltura si estende sia in aree pianeggianti che in aree acclivi. La varietà più importante è la Primitiva o Tempestiva (in attesa di riconoscimento IGP). E' la castagna più precoce in assoluto e di difficile impollinazione con un'incidenza di bacato molto elevata (dal 50 al 30%) ma, presentando il non trascurabile vantaggio economico della precocità della raccolta e, quindi, di esclusività sul mercato, viene principalmente venduta nel mercato estero e nel nord Italia. Le zone più vocate, su terreni vulcanici, freschi e ben esposti, sono ubicate nei comuni di Roccamonfina, Conca della Campania, Marzano Appio e Teano. Le altre varietà sono la Napoletana o Riccia (coltivata sul 50% della superficie provinciale), la Lucida o Lucente (coltivata solo nelle località di Garofali, Teano e Caianello) e la Paccuta (coltivata nella sola Teano fino a 600 m slm). In provincia di Benevento la coltura è limitata alle zone di Vitulano, Cusano Mutri e Tocco Caudio, sulle pendici del Monte Taburno. Le varietà coltivate sono la Enzeta e la castagna di Pannarano.

CAPITOLO 2

Il Castagno: attività agronomiche

Il castagno appartiene alla famiglia della Fagaceae insieme ai generi *Fagus* e *Quercus*.

Il castagno cresce nelle regioni montuose e temperate ed è coltivato ad altitudini che vanno dai 300 ai 1.000 m slm, a seconda della latitudine della zona di impianto. È una specie moderatamente termofila, piuttosto mesofila anche nelle sue esigenze edafiche e moderatamente eliofila, risentendo delle gelate tardive nelle vallate interne. Esige precipitazioni medie annue fra i 600 e i 1.600 mm con almeno 30 mm nei periodi estivi. In presenza di piogge non sufficienti, la pianta va incontro a una produzione sensibilmente ridotta. Il castagno si adatta a temperature medie annue fra gli 8° C e i 15° C, con temperature superiori ai 10° C per almeno sei mesi nell'annualità, anche se resiste a temperature invernali tra i -25° C e i -20° C.

La pianta di castagno si adatta in terreni tendenzialmente acidi, con pH non superiori a 6,5, e ricchi in fosforo. La densità ottimale per la crescita dei castagni è di 150-250 piante per ettaro, così che la chioma possa avere uno sviluppo ampio e regolare e la pianta stessa possa godere di buona illuminazione.

Affinché il castagneto prosperi e si abbia una produzione buona e di qualità, è necessario attuare le giuste pratiche agronomiche, che consistono in azioni di potatura, regimazione delle acque e monitoraggio degli infestanti, corretti raccolta e primo stoccaggio del frutto (D'Adda S., 2011; Ingino A., Ingino M., Della Porta D., Della Porta P., 2006; C.M. Valle Gesso e Vermenagna e C.M. Bisalta).

Potatura

Affinché il castagno mantenga vigore e produttività, è necessario che nelle buone pratiche di gestione del castagneto vengano pianificate azioni di potatura periodiche. Tali azioni sono mirate alla regolarizzazione e alla guida delle chiome, praticando tagli che tendano alla regimazione dei rami, in modo da ottimizzare l'illuminazione, e all'asportazione dei rami secchi presenti. Le azioni di potatura devono essere attentamente valutate e devono avvalersi di conoscenze specifiche e accorgimenti tecnici al fine di evitare l'indebolimento del castagno stesso. Il periodo ideale per la pianificazione delle azioni di potatura è quello che corrisponde al periodo di riposo vegetativo della pianta, dopo la caduta delle foglie e prima della loro nuova emissione, tra la fine di novembre e quella di aprile, in base alle condizioni climatiche riscontrate, evitando i periodi in cui il freddo risulta essere più accentuato a causa di possibili danni ai rami gelati. Di fondamentale importanza è la valutazione dello stato vegetativo del castagno, in quanto azioni di potatura premature comportano l'asportazione di foglie ancora in pieno vigore vegetativo, compromettendo la naturale tendenza dell'arbusto a prepararsi alla fase di riposo vegetativo invernale. D'altro canto, con azioni di potatura tardive vengono tagliati i nuovi germogli riducendo, così, la resa produttiva del castagno stesso.

Gli interventi di potatura devono essere indirizzati al rispetto del naturale portamento della chioma, assecondandone la forma, che varia a seconda della tipologia di castagno. Infatti, ogni intervento finalizzato a contrastare tale naturale attitudine della chioma comporta un continuo e oneroso controllo delle ramificazioni. In ogni caso, vanno evitati interventi sui rami maggiori, di I e II ordine, sia per preservare la struttura principale dell'albero sia per limitare il rischio di infezioni (ampie superfici di taglio) e l'eccessivo ricaccio di nuovi getti. Nel caso non si possano applicare tali strategie, si cercherà sempre di garantire un assetto equilibrato alla chioma.

Potatura di rimonda

Con la potatura di rimonda, o mondatura, si agisce eliminando tutte le parti anomale della pianta (Figura 3). La mondatura non prevede regole specifiche circa l'entità dell'intervento, che deve essere valutato in base allo stato di abbandono della pianta, al suo stato e al tempo trascorso dall'ultimo inverno. Tale azione di potatura si effettua contestualmente alla potatura delle branche vive.

L'intervento prevede la rimozione di parti secche e/o spezzate, che rappresentano un punto di facile attacco per diverse patologie, di parti con andamento irregolare rispetto al portamento della chioma, di parti senescenti ed ammalate, che non abbiano prospettiva di ripresa. La potatura di rimonda è un'attività dispendiosa sia in termini di tempo sia per l'onerosa quantità di materiale da potare dal castagno.

Al termine della mondatura si consiglia di allontanare e distruggere il materiale

di risulta, al fine di arginare l'espandersi di eventuali infezioni, quali ad esempio il Cancro corticale virulento, che ha la capacità di vivere e moltiplicarsi anche sul legno secco o morto.

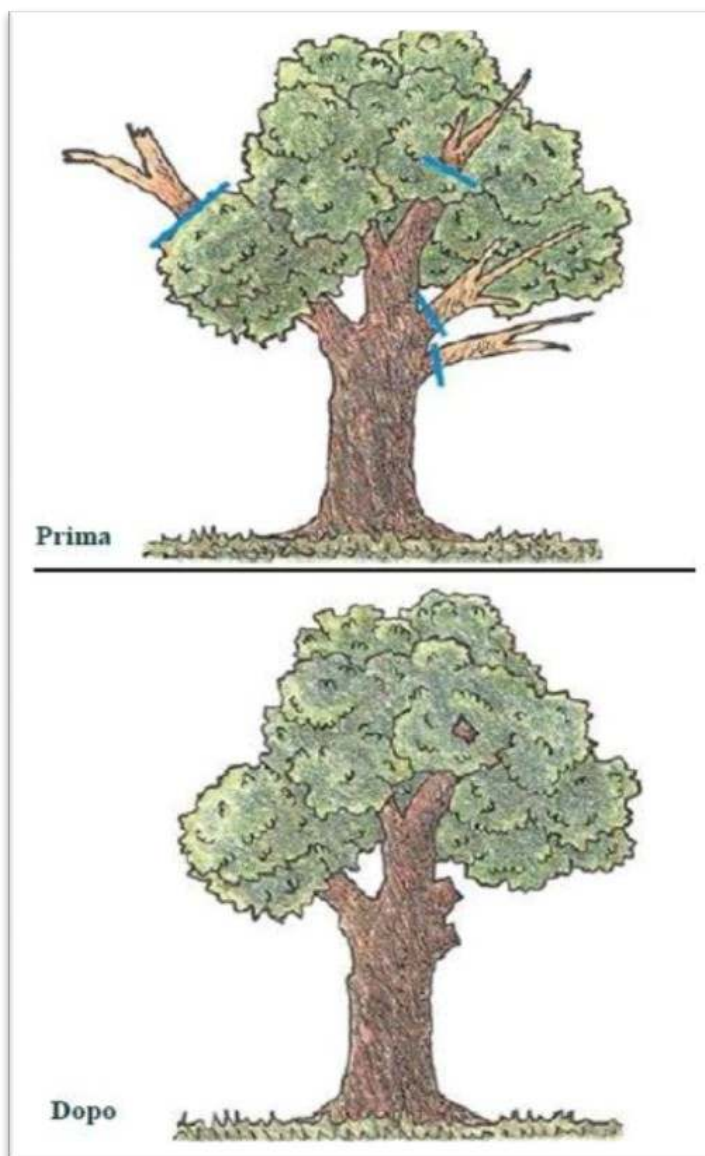


Figura 3 Potatura di rimonda

Potatura di riduzione

La potatura di riduzione, o ringiovanimento, è un intervento straordinario, da effettuarsi in concomitanza con il taglio delle branche secche dell'albero e su piante abbandonate da tempo, che presentano chiome irregolari e senescenti. L'entità dell'intervento è valutata a seconda delle condizioni degli arbusti. Con la potatura di riduzione si cercherà di conservare la struttura dell'albero, regolarizzandone la chioma, evitando però di intervenire sulle branche di I e II ordine se non danneggiate, valorizzandone le impalcature più basse ed ottimizzandone l'illuminazione (Figura 4).

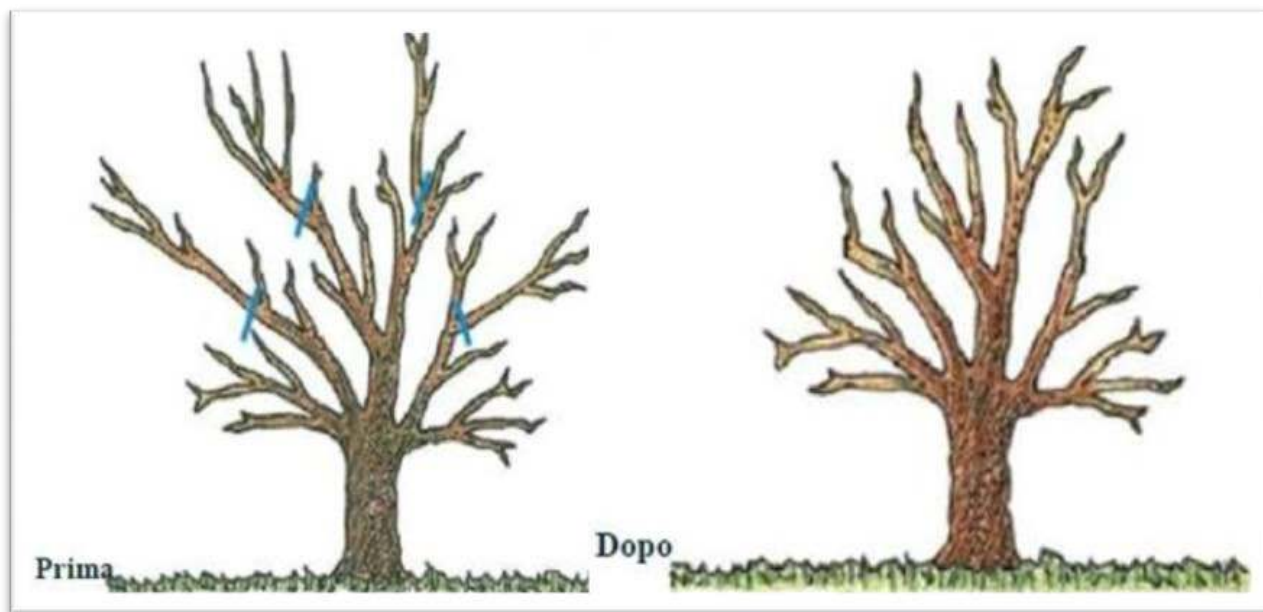


Figura 4 Potatura di riduzione

Potatura di riforma

La potatura di riforma è un intervento che serve a regolarizzare la crescita della chioma dopo gli interventi di riduzione. Deve essere attuato a 2-3 anni dall'intervento di ringiovanimento, tagliando i rami irregolari, intervenendo, se necessario, sulle branche principali e selezionando i rami più sani, più vigorosi e meglio disposti nella struttura della chioma.

La potatura di riduzione, se non seguita da potatura di riforma, non è efficace.

Potatura di mantenimento

La potatura di mantenimento è un'azione volta a conservare la struttura e la forma della chioma del castagno, intervenendo sui getti annuali che presentano lunghezza di circa 20 cm e che riducono il vigore vegetativo della pianta stessa. Questo tipo di intervento deve essere programmato ogni 3-5 anni, su piante già strutturate e ben regolate, procedendo con il diradamento e il raccorciamento dei rami irregolari e rimuovendo i rami senescenti e malati, in modo da ottimizzare l'insolazione dei rami sani. Con gli interventi di mantenimento, quindi, si deve favorire la crescita e l'insolazione dei rami più produttivi con conseguente aumento della pezzatura del frutto e dell'omogeneità del suo calibro.

Capitozzatura

Nel caso in cui la chioma del castagno si presenti estremamente sbilanciata, con numerose parti secche e/o malate, con i rami sani distribuiti in maniera disomogenea, è possibile programmare una ricostruzione radicale della chioma.

Questo intervento, che prende il nome di capitozzatura, consiste nel taglio direttamente sul fusto, sopra il punto di innesto, dell'intera chioma. È un'operazione estrema, da attuarsi solamente su piante potenzialmente produttive, ma estremamente danneggiate (Figura 5). Dalla capitozzatura, si avrà il completo riscoppio vegetativo del castagno e da operazioni successive, con cadenza almeno triennale, di diradamento e regolarizzazione delle branche, nel giro di alcuni anni, sarà possibile ottenere una chioma vigorosa, ben strutturata e produttiva.

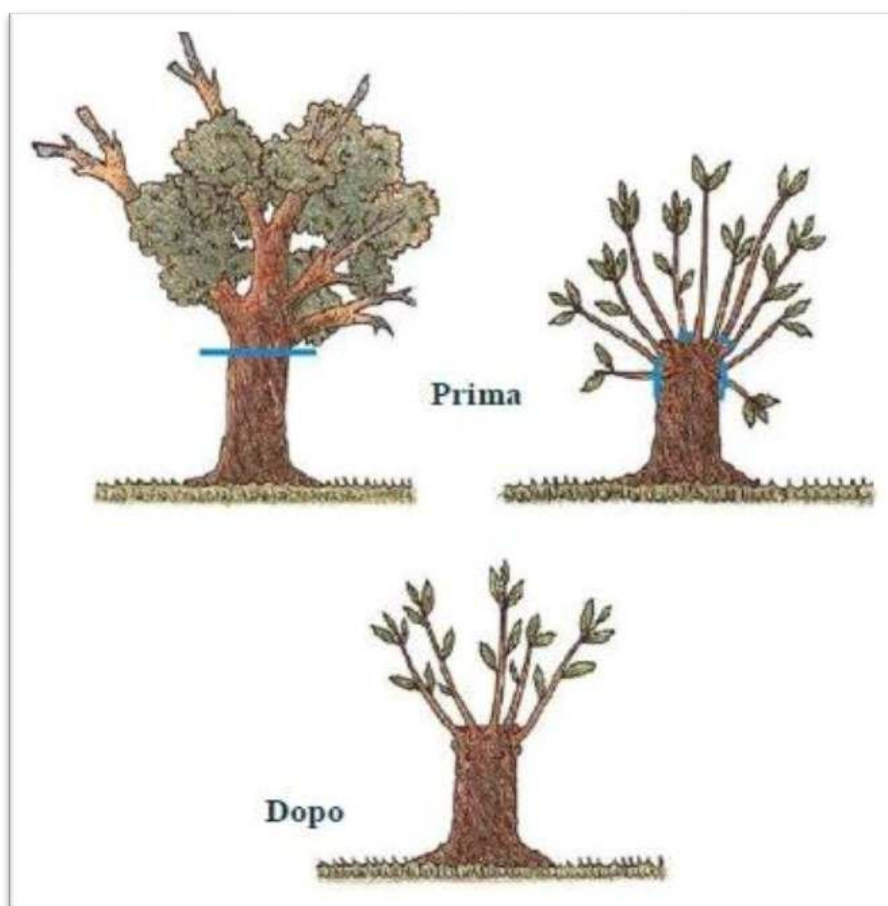


Figura 5 Capitozzatura

Concimazioni organiche

Il mantenimento della vigoria vegetativa è fondamentale e, a tal fine, le concimazioni organiche costituiscono un approccio sostenibile e con buone prospettive. Possono essere utilizzati ovunque concimi organici reperibili in loco, ammessi in coltivazione biologica, a base di compost di ricci e foglie di castagno, integrati, a seconda della carenza specifica di minerali e/o oligoelementi nel terreno, con composti capaci di apportare tali sostanze alla pianta. I prodotti possono essere distribuiti nelle zone di insidenza delle chiome, a spaglio o con altre modalità, in base alle condizioni di declività e d'impianto. La dose da somministrare varia in funzione delle

dimensioni delle piante, del periodo e soprattutto dalle necessità e/o carenze del terreno e delle piante.

Per le concimazioni primaverili, in media, si utilizzano dagli 8 ai 12 Kg di prodotto per pianta, poi, secondo le necessità del castagneto, è possibile ricorrere a una seconda concimazione, in questo caso invernale, che prevede l'impiego di circa 10-14 Kg di prodotto organico per pianta.

Concimazioni fogliari aeree

Le concimazioni fogliari aeree sono necessarie per introdurre un maggior apporto di sali minerali e oligoelementi, quali zinco, manganese, rame e ferro, nei castagni. Questi elementi non sono indispensabili per il fabbisogno nutritivo del castagno, ma concorrono anch'essi alla predisposizione delle condizioni di sviluppo e al completamento del ciclo produttivo dello stesso. Le concimazioni fogliari aeree si rendono necessarie quando, dalle concimazioni al terreno, non si riscontrano i quantitativi ottimali di sali minerali ed oligoelementi. Le concimazioni fogliari possono essere eseguite nei mesi primaverili - estivi in concomitanza con altri eventuali trattamenti, evitando il periodo di fioritura.

Monitoraggio degli insetti infestanti

L'attività di monitoraggio degli insetti dannosi riveste sempre un ruolo centrale nella moderna ed efficiente gestione agronomica del castagneto. Il monitoraggio è necessario al fine di:

- Stimare il potenziale danno causato dagli insetti per valutare l'eventuale convenienza economica del trattamento;
- Studiare e definire il ciclo biologico dell'insetto infestante ed individuarne il picco di sfarfallamento per effettuare l'eventuale trattamento.

Le tecniche per il monitoraggio degli insetti infestanti prevedono sia l'utilizzo di trappole cromotropiche e/o feromoniche sia il controllo visivo delle piante.

Nelle trappole cromotropiche (Figura 6), gli insetti vengono attirati dal colore della trappola, che essendo ricoperta da uno strato di colla, li trattiene. Le trappole cromotropiche gialle sono indicate per il monitoraggio del Cinipide Galligeno del castagno. A causa del ridotto raggio di azione delle trappole cromotropiche, si rende necessaria un'adeguata disposizione delle stesse, appese ai rami degli alberi, su tutta la superficie del campo da monitorare.

Per il monitoraggio delle tortrici è possibile, invece, utilizzare le trappole feromoniche (Figura 7) che, grazie agli ormoni sessuali di cui sono intrise, attirano e catturano gli individui.

Le trappole cromotropiche vanno utilizzate dalla metà di giugno alla fine di luglio e quelle feromoniche dalla metà di giugno alla fine di settembre. Entrambe le trappole vanno posizionate ad un'altezza di 150-180 cm dal suolo, legandole ai rami di castagno. Per un buon monitoraggio si consiglia di posizionare almeno 3 trappole ad una distanza di 25-30 m l'una dall'altra ed effettuare la lettura delle stesse a cadenza di 3-4 giorni.

Il monitoraggio degli insetti infestanti avviene, inoltre, per mezzo del controllo visivo. La ricerca di sintomi caratteristici della presenza di parassitoidi (galle, anomalie nelle foglie e nella corteccia, ecc...) può, infatti, aiutare nell'identificazione e nella lotta precoce agli infestanti.



Figura 6 Trappola cromotropica



Figura 7 Trappola feromonica

Pulizia del sottobosco e regimazione delle acque

La vegetazione arborea insediatasi spontaneamente rappresenta un elemento di forte disturbo per le piante da frutto, in riferimento alla disponibilità di luce, acqua e nutrienti. La presenza di un fitto sottobosco comporta, quindi, una perdita in crescita e fruttificazione dei castagni.

Influenzate dalla zona di ubicazione, le specie che si riscontrano nel sottobosco sono: robinia, frassino maggiore, betulla, pioppo tremulo, ciliegio e carpino nero. Gli interventi prediletti consistono nel taglio al piede delle piante infestanti e dei selvaggioni sviluppatisi spontaneamente e non utilizzabili per gli innesti o per il riempimento dei vuoti. L'operazione si completa con la ripulitura e l'allontanamento del materiale vegetale di scarto, veicolo di fitopatie. Si ricorda altresì di favorire all'interno del castagneto la presenza di querce, aceri e roveri, in ragione del 5-6%, ovvero 10-15 piante per ettaro. Queste piante, infatti, favoriscono l'insediamento di insetti utili al castagno.

La regimazione delle acque si rende necessaria per permettere un corretto deflusso delle acque piovane all'interno del castagneto. Con regimazione delle acque, si intendono gli interventi volti alla regolarizzazione delle masse idriche evitando la compromissione della costituzione delle riserve d'acqua nel suolo. Tali interventi possono prevedere la regolarizzazione del deflusso delle acque meteoriche favorendone la raccolta in una rete di scoline e canaletti distribuita in tutto il castagneto.

Irrigazione di soccorso

Il castagno necessita dai 1.000 ai 1.400 mm di pioggia annua ma, può non risultare sofferente anche con quantità inferiori (fino a 800 mm), purché l'acqua sia distribuita più o meno omogeneamente nel corso dei mesi. La siccità prolungata nel periodo estivo può compromettere

la crescita dei frutti (peso, dimensione e compattezza). Per questo, relativamente alle condizioni climatiche, è possibile predisporre azioni di irrigazione di soccorso nei mesi di luglio ed agosto, per supportare l'idratazione dei castagni.

I cambiamenti climatici

I cambiamenti climatici si manifestano sia sotto forma di progressivo e strisciante cambiamento del clima, sia come aumento di frequenza ed intensità di eventi meteorologici estremi. Sono proprio questi a causare stress ambientali tali da pregiudicare la sopravvivenza degli elementi più sensibili di un ecosistema.

Le estati del 2003 e del 2012 si sono rivelate tra le più torride e secche dall'inizio delle misurazioni strumentali nel 1864. Dal punto di vista delle temperature non ci sono stati precedenti addirittura negli ultimi 500 anni. Le temperature hanno, infatti, registrato valori nettamente al di sopra non solo della media pluriennale, ma anche dei valori estremi finora registrati. Dal punto di vista delle precipitazioni, il deficit idrico durante la stagione estiva si è attestato sul 60-70% della media pluriennale, in funzione delle condizioni locali. I potenziali effetti di un tale prolungato periodo di meteorologia eccezionale durante la stagione vegetativa risultano evidenti in un confronto dei valori dell'evapotraspirazione potenziale che ne risulta rispetto agli anni precedenti e successivi.

I danni dell'annata 2012 si sono protratti anche nel 2013. La produzione agricola, in vaste aree della Campania, ha avuto un tracollo produttivo con perdite anche del 90%.

Il castagno è una specie forestale molto suscettibile a questo tipo di stress e alla siccità estiva in particolare. Per tale motivo è importante implementare sistemi di irrigazione di emergenza capaci di ridurre il danno da siccità. Nel 2014 l'annata agraria nei periodi estivi è stata caratterizzata da frequenti piogge e sbalzi termici che hanno causato forti attacchi di fersa e, più in generale, di attacchi fungini. I danni al comparto castanicolo hanno superato il 95% in vaste aree della regione Campania.

Pulizia del sottobosco pre e post raccolta

Azioni volte alla pulizia del sottobosco prima della caduta dei ricci e delle castagne mature è di fondamentale importanza per rendere maggiormente reperibile il frutto caduto al suolo. La pulizia del sottobosco pre-raccolta consiste nella rimozione di felci, rami e quant'altro possa ostacolare la visibilità dei frutti caduti.

Alla fine della raccolta e alla fine dello stadio di maturazione e cascola dei frutti è buona prassi ripulire il sottobosco dalle foglie e dai ricci presenti. Il loro riutilizzo come compost permette l'attuazione di una concimazione completamente biologica ed efficace per il terreno stesso. La decomposizione deve essere favorita facendo dei cumuli e ricoprendoli con terreno, oppure

spruzzandovi sostanze azotate sulle foglie secche (urea ed acqua). Le foglie secche, infatti, sono veicolo di possibili attacchi fungini.

La bruciatura delle foglie è sconsigliata (le stesse possono essere punti di rilascio di insetti utili per la lotta biologica), tranne che in particolari casi od annate.

Raccolta delle castagne e primo stoccaggio

La castagna è un frutto molto sensibile alle problematiche fungine. All'interno dei frutti attaccati da balanino o cydia, le larve che vi si sviluppano, uscendo dal frutto, vanno a svernare o nella corteccia o nel terreno. Per tali motivi la raccolta dovrebbe essere tempestiva in modo che il frutto permanga il minor tempo possibile sul suolo. Si consiglia di effettuare almeno 3-4 passaggi di raccolta nel periodo di caduta delle castagne, raccogliendo separatamente le castagne bacate per ridurre il numero delle larve che andrebbero, poi, a svernare nel terreno. Il prodotto raccolto va inserito in sacchi di juta o cassoni in plastica che non devono avere diretto contatto con il terreno. L'utilizzo improprio di cassoni rivestiti in legno rimane una cattiva usanza, in quanto le spore fungine trovano ambiente favorevole per la colonizzazione e la trasmissione delle ife sulle altre castagne. Si sconsiglia, pertanto, l'uso di detti cassoni sia per il primo stoccaggio, ma anche per le attività di stoccaggio successive a quelle di cura. Il prodotto, dopo la raccolta, va tenuto in ambienti freschi e sufficientemente areati. L'ideale è avere celle di stoccaggio che mantengano la temperatura tra i 6 e gli 8 °C, in quanto i cambiamenti climatici di questi ultimi 10-15 anni stanno anticipando i periodi di raccolta e le temperature risultano molto spesso al di sopra dei 16-18 °C, favorendo i processi di deperimento dei frutti.

Trattamenti in regime di coltivazione biologica

Trattamenti rameici

Il rame ha proprietà fungicide e battericide. Il suo impiego in coltivazioni biologiche è assodato per una difesa efficace. L'utilizzo del rame e il suo meccanismo di azione multisito hanno evitato l'evoluzione di parassiti resistenti ad esso. I composti del rame vengono, solitamente, utilizzati nel periodo di riposo vegetativo della pianta, da novembre a marzo, in modo da evitare la presenza di alte concentrazioni degli ioni rame nei germogli e nei frutti. In regime di agricoltura biologica, il rame diventa quasi indispensabile per la difesa e la prevenzione degli alberi dalle fitopatologie.

Ad oggi, il regolamento europeo limita i quantitativi di rame impiegabili, portando l'attenzione dei produttori sulla creazione di prodotti capaci di migliorare le proprietà fungicide e batteriostatiche anche a concentrazioni dell'elemento estremamente ridotte.

In castanicoltura, i composti del rame vengono utilizzati nella lotta biologica alle cydie e al balanino, attraverso la somministrazione di composti specifici, direttamente sulla pianta, nel mese di marzo. Di fondamentale importanza è, anche, il ruolo che i composti del rame giocano nella lotta alla fersa. Azioni volte a tal fine, infatti, prevedono la somministrazione del rame ai castagni

a fine inverno, durante l'ingrossamento delle gemme in primavera, quando i germogli presentano uno sviluppo di 10-15 cm, verso la metà del mese di luglio fino ad agosto.

Nematodi entomopatogeni

I nematodi sono piccoli organismi vermiformi che vivono nel terreno e si cibano delle larve di altri insetti. A differenza dei normali nematodi, spesso dannosi alle piante e agli animali come i cani, i nematodi entomopatogeni risultano essere completamente innocui. Come per i nematodi classici, gli entomopatogeni si nutrono delle larve di altri insetti sia durante la loro fase di maturazione sia in procinto di diventare adulte (crisalidi). I nematodi vivono nel terreno e, in condizioni di umidità elevata, come dopo piogge abbondanti o cospicue irrigazioni, si disperdono nelle acque e vengono trasportati in cerca di nuove prede. Sono un valido mezzo di lotta biologica alle cydie e il periodo indicato per la distribuzione dei nematodi entomopatogeni sui terreni dei castagneti è il mese di maggio, seguito da un secondo possibile trattamento da effettuarsi dopo la raccolta delle castagne (novembre).

Confusione sessuale delle cydie: sperimentazione in fase avanzata

La confusione sessuale è un metodo di difesa biologica dalle cydie. Tale trattamento consiste nell'inibizione sessuale delle cydie, andando ad limitare il loro accoppiamento e, quindi, impedendone la riproduzione. La tecnica della confusione sessuale prevede l'utilizzo di feromoni sessuali femminili di sintesi, che, rilasciati nell'ambiente, attraggono i soggetti di genere maschile impedendo il loro accoppiamento. I feromoni vengono inseriti nell'ambiente attraverso il posizionamento di dispenser impregnati degli stessi oppure tramite spray contenenti microcapsule di feromoni sessuali. Il periodo più idoneo all'immissione dei feromoni sessuali coincide con l'inizio del periodo di volo delle tortrici (luglio-agosto).

Questo metodo di difesa biologica dalle cydie è in fase avanzata di sperimentazione.

Naturalmente, il monitoraggio della presenza degli insetti si rende necessario per la scelta del periodo ottimale per l'attuazione di questo tipo di lotta biologica.

Trattamenti in regime di coltivazione integrata

A seguito delle attività di monitoraggio per contrastare cydia e balanino, è possibile effettuare trattamenti a base di lambda-cialotrina, nel mese di luglio e/o nel mese di agosto. I trattamenti fitosanitari non devono essere effettuati a calendario ma devono eventualmente essere implementati dopo attente verifiche di monitoraggio fitopatologico per valutare l'esatto periodo di trattamento. Non individuare il periodo più appropriato per il trattamento può generare danni ambientali e stress agronomici, oltre che un inutile spreco economico.

CAPITOLO 3

Il Castagno: problematiche fitosanitarie

Il Cinipide Galligeno del Castagno

L'imenottero *Droycosmus kuriphilus* Yatsumatsu, il Cinipide Galligeno del Castagno, è un piccolo insetto di colore nero particolarmente dannoso per il castagno (Figura 8). Originario della Cina, è stato segnalato per la prima volta in Italia in Piemonte nel 2002, e successivamente, nel 2008 in Campania. Questo Cinipide attacca sia il castagno europeo, selvatico o innestato, sia gli ibridi euro-giapponesi.

Come si riconosce

La popolazione è costituita di sole femmine, lunghe circa 2 mm, di colore nero e con zampe giallo-brunastre, in grado di deporre fino a 150-180 uova. Il Cinipide svolge una sola generazione all'anno, con comparsa degli adulti da fine maggio a luglio e deposizione delle uova nelle gemme delle piante ospiti. Le larve nascono a partire dalla fine di luglio e svernano nelle gemme senza che vi siano segni visibili della loro presenza, la quale si riscontra in primavera, quando si ha la formazione di vistose galle(escrescenze tondeggianti, con superficie liscia e lucida, inizialmente di colore verde chiaro poi tendenti al rosso) su germogli, nervature fogliari e infiorescenze (Figura 9). Gli attacchi di questo temibile fitofago possono determinare gravi danni, oltre che alla produzione dei frutti, anche agli accrescimenti legnosi.



Figura 8 Cinipide Galligeno del Castagno



Figura 9 Galle formatesi a seguito della presenza del Cinipide galligeno del castagno

Come si monitora

La presenza del Cinipide Galligeno del Castagno viene monitorata mediante l'utilizzo di trappole cromotropiche gialle, attraverso le quali si definiscono le fasi dello sfarfallamento ed il ciclo di vita della vespa cinese.

Come si combatte

Protagonista della lotta biologica a questo infestante è il *Torymus sinensis* Kamijo, imenottero parassitoide larvale del Cinipide del Castagno. La popolazione è composta sia da individui maschi sia da femmine. Questi insetti hanno una lunghezza di circa 2,5 mm, hanno il corpo di

colore verde metallico e le zampe giallastre ed un ovodepositore distingue la femmina dal maschio



Figura 10 Femmina di *Torymus sinensis*

(Figura 10). Il *T. sinensis* inizia a sfarfallare dalle galle secche presenti sul castagno tra la fine di marzo e la prima settimana di maggio, a seconda delle condizioni ambientali, e ha un ciclo di vita della durata di circa 30 giorni. È necessario il suo accoppiamento per l'eterogeneità di genere alla schiusa della ovodeposizione. Infatti, le femmine di *T. sinensis* non accoppiate depongono uova da cui nascono solo individui maschi, rallentando la crescita della popolazione. Le uova vengono deposte sul corpo del Cinipide o, comunque,

all'interno della cella larvale, così che la larva di *T. sinensis* possa cibarsi della larva della vespa cinese.

Le Cidie

Pammene fasciana: Tortrice precoce delle castagne

Come si riconosce

L'adulto, dall'apertura alare dai 15 ai 18 mm, è caratterizzato da un'ampia macchia biancastra sub mediana che dalla metà dell'ala anteriore si allarga fino al margine interno (Figura 11). Alle estremità della macchia si osservano tre piccole macchie nere e il margine costale mostra tacche virgoliformi nere. La larva matura raggiunge le dimensioni di 11-13 mm di lunghezza e presenta ampie verruche pilifere di colore rosso scuro e capsula toracica di colore bruno (Figura 12). La crisalide è di colore testaceo e raggiunge le dimensioni di 8-10 mm. La larva attacca i frutti scavando una galleria nel loro interno per poi fuoriuscire e attaccare quelli vicini. I ricci danneggiati si riconoscono dalla presenza di rosura ed escrementi. Si assiste ad una precoce e sovente cascola dei ricci.



Figura 11 Adulto di *Pammene fasciana*



Figura 12 Larva di *Pammene fasciana*

Cydia fagiglandana: Tortrice intermedia delle castagne

Come si riconosce

Gli adulti della *Cydia fagiglandana*, dai 13 ai 19 mm di lunghezza, hanno ali anteriori brune con striature oblique chiare che, partendo dai margini costali e interni, si propagano a “spina di pesce” verso la parte distale (Figura 13). Negli esemplari maschi le ali, inoltre, presentano, nella regione anale, due macchie bianchastre che, unite, formano un disegno a U. Le ali posteriori sono di colore bruno e sono uniformi. La larva, che ha dimensioni nel periodo della maturità di 14-17 mm, è di colore rossastro con capo castano, placca pronotale e scudo sopranale giallo-rossastri e presentano segmenti addominali rosso carminio (Figura 14). La crisalide della *Cydia fagiglandana* è di colore testaceo e presenta piccole spine disposte in unica fila.



Figura 13 Adulto di *Cydia fagiglandana*



Figura 14 Larva di *Cydia fagiglandana*

Cydia splendana: Carpocapsa delle castagne

Come si riconosce

Gli esemplari adulti della *Cydia splendana*, detta anche tignola, hanno un'apertura alare compresa tra i 13 e i 18 mm. Presenta ali di colore grigio cenere o grigio bruno, con una caratteristica macchia gialla, con bordatura prossimale nera vellutata, nell'angolo posteriore, accompagnata da quattro piccoli tratti neri (Figura 15). Ad ali chiuse, le due bordature nere formano un'ampia macchia romboidale. La larva, che nel suo stadio di maturità arriva ai 12-16 mm di lunghezza, è di colore bianco o leggermente rosso con capo bruno e scudo protoracico e placca anale giallastri (Figura 16). La tignola si sviluppa a spese delle castagne. La larva,



Figura 15 Adulto di *Cydia splendana*



Figura 16 Larva di *Cydia splendana*

attraverso il riccio, penetra dalla parte basale scavando una galleria nell'ilo, da cui arriva all'interno della castagna dove completa il suo sviluppo erodendo il frutto. Le castagne infestate cadono prematuramente a terra. Nel caso di attacchi da *Cydia splendana* molto superficiali, i danni riscontrati sono puramente estetici, in quanto la parte interna resta integra.

Come si monitorano

Le infestazioni da *cydia* si manifestano con cascola precoce dei frutti. Al fine di verificare con esattezza l'andamento di tali infestazioni, si ricorre all'installazione di trappole feromoniche per monitorare l'inizio dei voli e poter scegliere il periodo più adatto ad eventuali trattamenti fitosanitari.

Come si combattono

In lotta biologica, le *cydie* si possono contrastare intervenendo con nematodi entomopatogeni. In questo caso si possono programmare due trattamenti: uno a maggio e l'altro a fine della raccolta (novembre).

Studi scientifici hanno dimostrato che, in coltivazione biologica, un efficace metodo di lotta alle cidie è l'utilizzo della confusione sessuale con feromoni, tecnica in fase avanzata di sperimentazione. In regime di coltivazione integrata, inoltre, è possibile programmare interventi di lotta alle cidie a base di lambda-cialotrina, da effettuare tra i mesi di luglio ed agosto.

Il Balanino

Il balanino, nome scientifico *Curculio elephas*, è un piccolo coleottero, che si nutre a spese dei frutti del castagno.

Come si riconosce

L'insetto, di forma ovale allungata, è di colore grigio-giallastro, lungo tra i 6 e i 10 mm, provvisto di antenne rossicce, ed è caratterizzato dal rostro, una protuberanza del capo filiforme e allungata verso il basso. Nelle femmine, la lunghezza del rostro è leggermente maggiore rispetto a quella del corpo, mentre nei maschi le dimensioni sono uguali alla metà del corpo (Figura 17). Le larve, in posizione distesa con lunghezza dai 7 ai 12 mm, sono biancastre, apode, carnose e dalla tipica curvatura a C (Figura 18). Le larve di balanino, nate dalla schiusa delle uova nel seme delle castagne, si nutrono della polpa delle castagne e dopo



Figura 17 Adulto di Balanino



Figura 18 Larva di balanino

circa 30-45 giorni fuoriescono dal frutto praticando il tipico foro nel pericarpo.

Le castagne, svuotate della loro polpa, risultano piene di escrementi e cadono prematuramente. I frutti danneggiati dal balanino risultano essere, quindi, più leggeri rispetto a quelle sane.

I frutti caduti precocemente sono opachi e presentano un evidente foro, più grande e più preciso rispetto a quello causato dalle infestazioni da cidie.

Come si monitora

Il monitoraggio del balanino avviene tramite l'installazione di trappole "meccaniche", direttamente sul terreno. Esse occupano una superficie di circa 0,5 m² e prevedono la presenza di un sistema di cattura, con apposite falcon, degli insetti al loro sfarfallamento.

Come si combatte

La lotta al balanino è di tipo preventivo e si avvale di trattamenti fisici per la conservazione delle castagne. La lotta preventiva consiste nella raccolta e distruzione delle castagne cadute precocemente. Raramente vengono giustificati interventi chimici. In ogni caso, questi vanno effettuati nel periodo estivo utilizzando fosfororganici. I trattamenti sono, in genere, programmati nel mese di agosto. La lotta al balanino viene condotta anche sul frutto già raccolto, effettuando una disinfezione in acqua a 48°C per circa 50 minuti e lasciando asciugare il prodotto accuratamente, per evitare l'insorgere di micopatie.

Gli attacchi fungini

Gnomoniopsis (Marciume delle castagne)

I sintomi della pianta

I sintomi della malattia si presentano nei frutti, all'inizio della maturazione, come aree gessose sugli strati superficiali e successivamente estese su quelli più profondi. Il colore del frutto, a seguito dell'attacco dello *Gnomoniopsis*, muta da crema a bruno-nerastro e l'intero endosperma



Figura 19 Sintomi dello *Gnomoniopsis*

mummifica (Figura 19). Dall'interno, il fungo poi passa all'esterno del frutto, mostrandosi con piccoli corpi fruttiferi cuoiosi sulla buccia che, aprendosi, liberano masse mucillaginose di spore.

Come si combatte

L'infestazione da *Gnomoniopsis* si combatte preventivamente con trattamenti a base di rame da

effettuarsi uno nel mese di marzo, quando la pianta non

è ancora in vegetazione, un altro nel mese di giugno prima della fioritura ed un terzo a fine agosto - inizi settembre. Sono in fase di sperimentazione dei fitofarmaci sistemici con proprietà fungicide, i cui trattamenti (a base di tubeconazolo) vengono programmati solo nella prima quindicina di agosto.

Fersa (Nebbia delle castagne)

I sintomi della pianta

La fersa è causata dal fungo *Mycosphaerella maculiformis*. La fersa attacca di preferenza le foglie, meno frequentemente i germogli, i ricci, i piccioli fogliari e i peduncoli fiorali. Le foglie colpite presentano inizialmente numerose macchioline angolose di colore bruno-rossiccio che, successivamente, si spandono su tutta la superficie fino al disseccamento, all'accartocciamento e alla caduta prematura delle foglie stesse (Figura 20). I ricci colpiti mutano il loro colore fino a divenire rossastri e a cadere prematuramente. Le piante colpite da questo patogeno, generalmente, sopravvivono ma, in caso di attacco massiccio, defogliano prematuramente, vegetano in maniera stentata e manifestano una produttività ridotta.



Figura 20 Sintomi della Fersa

Come si combatte

La lotta alla fersa viene effettuata solo in caso di frequenti e gravi infezioni. Le metodiche consistono in energiche potature e successiva distruzione delle porzioni di chioma infette e, eventualmente, con trattamenti rameici da effettuarsi alla comparsa del fenomeno. Nei vivai, le campagne di prevenzione dalla fersa vengono condotte con utilizzo di anticrittogamici a base di rame.

Cancro della corteccia

I sintomi della pianta

Il cancro della corteccia è causato dal fungo *Cryphonectria parasitica*. Il parassita penetra nella corteccia dei rami e dei giovani fusti attraverso ferite e provoca cancri che possono espandersi fino al completo circondamento degli stessi. La corteccia degli organi colpiti si presenta con una colorazione scura, depressa, con profonde fessurazioni e con caratteristici ventagli di color



Figura 21 Sintomi del Cancro della Corteccia

bianco crema presenti sotto la stessa (Figura 21).

Attorno alla parte colpita della pianta, durante i periodi umidi e miti, si formano fruttificazioni, chiamate picnidi, dalla forma di piccole pustole di circa 1 mm giallo-aranciate. Dai picnidi si sviluppano i conidi, dalla lunghezza di circa 3,5 μm , da cui avviene la diffusione del patogeno.

Come si combatte

La pratica più comune per la lotta contro il cancro della corteccia consiste nel favorire il processo naturale della diffusione dei ceppi ipovirulenti per assicurare la sopravvivenza e la capacità produttiva dei castagneti. Le azioni volte a tal proposito prevedono l'eliminazione dei rami e dei fusti uccisi dalla malattia, lasciando le branche colpite da cancri cicatrizzanti e cicatrizzati come fonte di inoculo del patogeno ipovirulento. Tali inoculi, in caso di gravi danni, possono essere condotti artificialmente.

Mal dell'inchiostro

I sintomi della pianta

Il Mal dell'inchiostro è provocato da funghi del genere *Phytophthora* spp. La malattia colpisce l'apparato radicale delle piante e si diffonde nei luoghi in cui il terreno tende a trattenere un certo quantitativo di acqua durante il periodo primaverile-estivo. La presenza del Mal dell'inchiostro non è facile da diagnosticare. Si manifesta con necrosi sulla corteccia, dalle caratteristiche forme a fiamma o a diagramma, e dalla fuoriuscita di liquido nerastro alla base del fusto (Figura 22). Nei casi più gravi dallo scortecciamento è possibile percepire un forte odore di tannino. Altri sintomi sono il deperimento della pianta, la riduzione della crescita e l'ingiallimento progressivo della chioma con disseccamento delle estremità dei rami. Le foglie, dalle dimensioni ridotte, cadono prematuramente e i ricci vengono trattenuti ai rami senza però giungere a maturazione.



Figura 22 Sintomi del Mal dell'inchiostro

Come si combatte

La lotta al Mal dell'inchiostro consiste nel taglio netto dell'albero colpito e nell'eliminazione, meccanica o chimica, del ceppo. Ai primi stadi dell'infezione si ricorre all'utilizzo di prodotti azotati come la pollina. I ristagni idrici sono una delle cause alla base del diffondersi della malattia, quindi occorre attuare un piano di regimazione delle acque.

Marciume radicale

I sintomi della pianta

Il fungo *Armillaria mellea* provoca il Marciume radicale. L'*Armillaria* è un parassita che colonizza, solitamente, le piante già debilitate da altri patogeni. L'attacco si manifesta con sofferenza e morte della pianta. Il Marciume radicale si manifesta con la presenza di feltro cotonoso alla base degli arbusti, allo scortecciamento del fusto. Tale feltro tende, poi, a scurire promuovendo la crescita di filamenti simili a radici nerastri che si diffondono nel terreno.

Come si combatte

La strategia per la lotta al marciume radicale consiste nelle norme di buona pratica colturale, con monitoraggio dei castagneti, rimozione di tutte le possibili cause di sofferenza per le piante ed eliminando tutte le fonti di inoculo dovute a ramaglia, polloni, residui e vegetali morti, eventualmente presenti nel castagneto.

CAPITOLO 4

Lotta biologica con nematodi entomopatogeni

Si definisce *lotta biologica* o *biocontrollo* “l'utilizzo di organismi naturali o modificati, di geni o prodotti genici, atti a ridurre gli effetti degli organismi indesiderati e favorire quelli utili all'uomo, alle coltivazioni, agli animali e ai microrganismi simbiotici”, includendo in questa definizione anche le pratiche di lotta agronomica e l'applicazione delle recenti tecniche di biologia molecolare per lo sviluppo di nuove biotecnologie (Accademia Nazionale della Scienza degli Stati Uniti - NAS, 1987).

L'obiettivo principale del controllo biologico è la riduzione, tramite uno o più organismi, della densità di inoculo o delle capacità patogeniche di un parassita nel suo stato attivo o dormiente (riduzione che si verifica naturalmente o mediante la manipolazione dei fattori ambientali, della pianta ospite, di un antagonista) oppure mediante l'introduzione massiva di uno o più antagonisti.

Il controllo biologico si realizza essenzialmente attraverso tre strategie principali:

1. contenimento della popolazione patogena mediante interventi sul suolo o sull'ambiente;
2. sfruttamento della resistenza della pianta ospite;
3. esclusione dell'infezione con l'uso di microrganismi antagonisti.

Nonostante gli indubbi vantaggi che potrebbero derivare da un suo più largo impiego, la lotta biologica è ancora poco diffusa, anche a causa dell'incostanza dei risultati. Tale incostanza può essere attribuita all'influenza dell'ambiente in cui gli agenti di biocontrollo (Biological Control Agent, BCA) si trovano ad operare e che, di volta in volta, può risultare favorevole al patogeno o al suo antagonista, ma anche all'efficacia, a volte modesta, di alcuni BCA (Whipps J. M., Lumsden R. D. 2001).

Nell'ambito delle diverse applicazioni di lotta biologica, l'impiego di nematodi parassiti degli insetti (nematodi entomopatogeni) acquisisce sempre maggior interesse nel controllo di varie avversità in differenti settori agricoli.

Anche nel settore castanicolo alcune sperimentazioni hanno fornito interessanti risultati ed indicano buone prospettive di impiego nella gestione e nel controllo di infestanti quali le cidee ed il balanino. Il settore, però, è ancora carente di dati relativi alle applicazioni in pieno campo e alle metodologie ottimali di intervento. Infatti, sono state riscontrate sostanziali differenze tra le condizioni di sperimentazione in laboratorio e in pieno castagneto, dove molte sono le variabili ambientali, e, quindi, non facilmente valutabili, che giocano ruoli fondamentali nell'azione dei nematodi entomopatogeni.

I nematodi

I nematodi sono vermi cilindrici semplici. Incolori, non segmentati e privi di appendici, i nematodi possono essere a vita libera, predatori o parassiti (Figura 23). Alcune delle specie

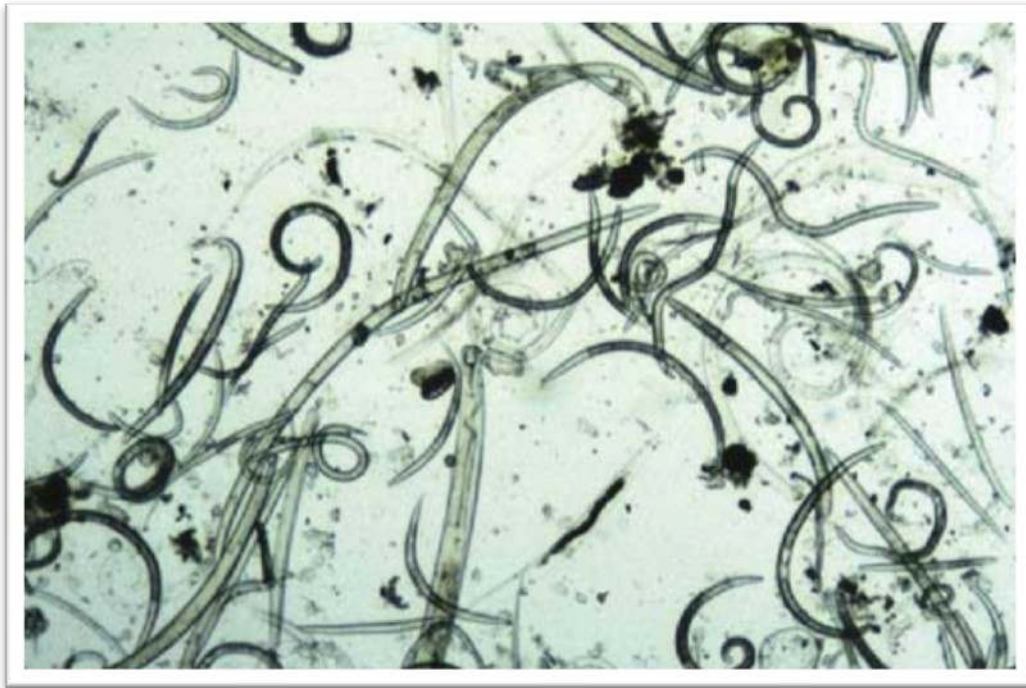


Figura 23 Nematodi osservati al microscopio (Integrated Pest Management – Iowa State University)

parassitiche causano importanti malattie per le piante, gli animali e gli umani. Il termine “nematodi entomofili” include tutte le relazioni di insetti e nematodi che vanno dalla aferesi al parassitismo e alla patogenesi. I “nematodi entomogeni” sono quelli che hanno associazioni parassitiche facoltative o obbligate con i loro insetti ospiti. I nematodi entomogeni hanno molti effetti deleteri sui loro ospiti che includono infertilità, riduzione di fertilità, longevità e attività di volo, ritardo dello sviluppo o altre aberrazioni comportamentali, fisiologiche e morfologiche ed in alcuni casi rapida mortalità. Le associazioni parassitiche con gli insetti ospiti sono state riscontrate per 23 famiglie di nematodi. Sette di queste contengono specie che hanno un buon potenziale nel controllo biologico degli infestanti (Koppenhofer and Kaya, 2001). Pochi nematodi causano la morte dell’insetto ospite ma queste specie tendono ad essere difficili o troppo costose da produrre in massa, hanno una ridotta specificità per l’insetto infestante ospite di minore importanza economica, possiedono una modesta virulenza o sono poco adatte da sfruttare per il controllo biologico. I soli nematodi parassiti di insetti ospiti che possiedono un ottimo equilibrio di caratteristiche di controllo biologico sono i nematodi entomopatogeni o nematodi insetticidi del genere *Steinernema* e *Heterorhabditis*, a causa della loro abilità di uccidere l’ospite in tempi da 1 a 4 giorni (in dipendenza del nematode e della specie ospite). L’associazione mutualistica, causa dell’azione limitatrice e mortale nei confronti dell’ospite, di questi nematodi con i batteri dei generi *Xenorhabdus* per l’*Steinernematidae* e *Photorhabdus* per lo *Heterorhabditidis* è stata documentata da Boemare et al. (1993). Comunque, sebbene entrambe le famiglie appartengano allo stesso ordine non sono strettamente correlate e hanno differenti strategie riproduttive (Blaxter et al., 1998).

I nematodi entomopatogeni

I nematodi entomopatogeni sono straordinariamente letali per molti insetti infestanti, restando innocui per gli organismi non rientranti nella loro sfera di azione (Georgis *et al.*, 1991). Questo elevato grado di sicurezza fa sì che, non come i prodotti chimici o anche il *Bacillus thuringiensis*, gli operatori non abbiano necessità di indossare protezioni. Inoltre, dall'utilizzo di nematodi entomopatogeni, tempi di rientro, residui, contaminazione del sottosuolo, abuso chimico e impollinatori non rappresentano un problema. Molti agenti biologici richiedono molto tempo per agire nei confronti degli agenti infestanti, ma i nematodi, lavorando con i loro batteri simbiotici, possono agire in 24-48 ore. Molti sono gli infestanti bersaglio dei nematodi e non sono stati riscontrati effetti su altre specie di insetti benefiche o altri organismi non specificatamente attaccabili dai nematodi entomopatogeni stessi (Georgis *et al.*, 1991; Akhnurst and Smith, 2002). I nematodi possono essere prodotti in massa e non richiedono specifiche dotazioni tecniche, poiché sono compatibili con le dotazioni agrochimiche, inclusi vari spray (zaini, pressurizzati, misti, elettrostatici, a getto ed irrorazione aerea) e con i sistemi di irrigazione (Vashisth *et al.*, 2013). I nematodi entomopatogeni sono stati ritrovati in tutti i continenti ad eccezione dell'Antartide per il controllo di insetti infestanti in agricoltura (Shapiro-Ilan e Gaugler).

Ciclo di vita

I nematodi entomopatogeni delle specie *Steinernema* e *Heterorhabditis* hanno cicli di vita simili: il ciclo da uovo ad adulto passa attraverso 4 stadi larvali, di cui il terzo costituisce lo stadio infettivo ed è anche l'unica fase a vita libera nel suolo al di fuori dell'ospite.

La fase a vita libera, ovvero larve infettive di queste specie di nematodi entomopatogeni evolutivamente arretrate dalla mancata alimentazione, ha caratteristiche sia di parassitoide che di predatore, ha chemorecettori ed è mobile, come i patogeni altamente virulenti, capace di uccidere velocemente l'ospite, può essere prodotta in coltura facilmente e ha un grande potenziale riproduttivo. Wang e Gaugler (1999) hanno comparato il comportamento penetrativo del *S. glaseri* e del *H. bacteriophora* nelle larve di *Popillia japonica* e hanno scoperto che *S. glaseri* è penetrata attraverso l'intestino più velocemente. *H. bacteriophora*, d'altro canto, non ha avuto efficienza nella penetrazione intestinale, presumibilmente a causa della spessa membrana peritrofica, ma nella penetrazione attraverso le membrane intersegmentali delle cuticole. Questi studi hanno verificato la dipendenza dell'efficacia dei nematodi entomopatogeni considerati dalla specie e dall'ospite. Una volta nella cavità corporea, batteri mobili simbiotici Gram-negativi (*Xenorhabdus* per i nematodi del genere *Steinernema* e *Photorhabdus* per i nematodi del genere *Heterorhabditis*), bastoncini anaerobi facoltativi della famiglia delle Enterobacteriaceae, vengono rilasciati dall'intestino dei nematodi. Questi si riproducono velocemente e portano alla rapida morte dell'insetto ospite provocando setticemia.

Ad oggi, sono state riconosciute sette specie ma la maggior parte degli isolati da specie di nematodi entomopatogeni deve ancora essere identificata (Hazir *et al.*, 2003). I nematodi si nutrono degli stessi batteri, che liquefacendo l'ospite creano un substrato ideale per la loro sopravvivenza e quella dei nematodi entomopatogeni, che maturano nello stato adulto. Le larve infettive di *Steinernema* possono essere sia maschi che femmine, mentre quelle di *Heterorhabditis* si sviluppano in ermafroditi autofecondanti. Dopo uno o due cicli riproduttivi, si hanno circa 500.000 larve infettive per grammo di ospite. Prima della fuoriuscita dei nematodi entomopatogeni dal cadavere dell'infestante, i batteri simbiotici si localizzano nell'intestino anteriore delle larve infestanti perpetuando la simbiosi.

Il ciclo di vita si conclude in pochi giorni e centinaia di migliaia di nuove larve infettive emergono in cerca di un nuovo ospite (Figura 24).

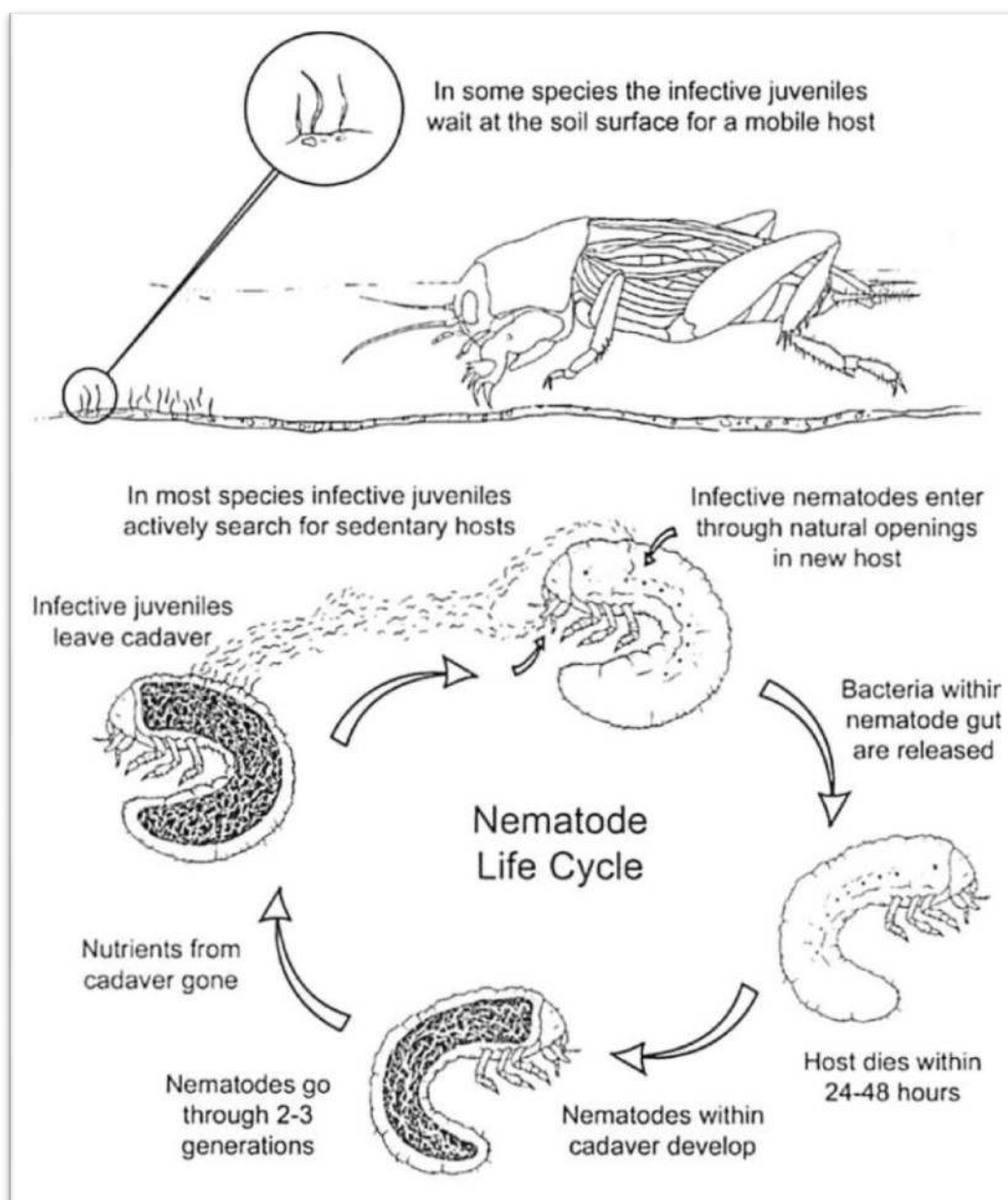


Figura 24 Rappresentazione del ciclo di vita dei nematodi entomopatogeni (www.pesthoreca.com)

Le larve infettive emerse si disperdono sia in orizzontale che in verticale, e sia attivamente che passivamente. La diffusione attiva richiede la presenza di un film liquido ed è limitata ad un raggio di alcuni centimetri, mentre quella passiva, ad opera di pioggia, vento, movimentazione del terreno ed insetti, ha un raggio di azione che può arrivare al chilometro.

Le larve infettive in fase libera non si alimentano, ma possono sopravvivere grazie a riserve di energia. I lipidi, specialmente i trigliceridi, costituiscono circa il 40% del peso corporeo dei nematodi (Selvan *et al.*, 1993; Fitters *et al.*, 1999) e sono la maggior fonte di energia a cui essi attingono, insieme alle proteine e ai carboidrati glicogeno e trealosio (Qiu e Bedding, 2000).

Quindi, i nematodi entomopatogeni sono un complesso nematodi-batteri. In questa associazione, il nematode risulta dipendente dal batterio per uccidere velocemente l'insetto ospite, creando un ambiente adatto al suo sviluppo con la produzione di sostanze antibiotiche, che sopprimono gli organismi competitori secondari, e con la trasformazione dei tessuti dell'ospite in fonte di alimentazione. D'altro canto, i batteri necessitano dei nematodi per avere protezione dall'ambiente esterno, per penetrare all'interno dell'emocele dell'ospite e per l'inibizione delle proteine antibatteriche dell'ospite (Vashisth *et al.*, 2013).

Gli infestanti uccisi dei generi *Steinernema* e *Heterorhabditis* presentano caratteristiche differenti: i primi assumono colore marrone o bruno-rossiccio; i secondi assumono consistenza gommosa e colorazione rossa. Nel caso in cui siano presenti cadaveri di insetti dalla colorazione bianca è possibile escludere un attacco da nematodi entomopatogeni (Vashisth *et al.*, 2013).

Fattori edafici

La struttura del suolo ha effetti sulla sopravvivenza delle larve infettive, che mostrano sopravvivenza minore in terreni argillosi. Lo scarso tasso di sopravvivenza nei terreni argillosi è probabilmente dovuto ai bassi livelli di ossigeno nei pori più piccoli del terreno stesso. L'ossigeno potrebbe, inoltre, diventare un fattore limitante in terreni saturi d'acqua e in terreni con contenuti di sostanze organiche. Il pH del terreno non ha un grande effetto sulla sopravvivenza delle larve infettive dei nematodi entomopatogeni. La sopravvivenza delle larve infettive a pH compresi tra 4 e 8 non mostra variazioni, ma un declino della sopravvivenza larvale si riscontra a pH 10. Allo stesso modo, solo la salinità del suolo ha effetti limitanti negativi sulla sopravvivenza dei nematodi entomopatogeni, anche a salinità superiori ai livelli di tolleranza per molte piante coltivate (Thurston *et al.*, 1994).

L'acqua marina non produce effetti negativi su diversi specie/ceppi di *Heterorhabditis* (Griffin *et al.*, 1994), i quali sono stati isolati anche in suoli vicino alle coste. Comunque, l'alta salinità (dalla presenza di acqua marina) riduce la capacità dei nematodi appartenenti al genere *Heterorhabditis* di infestare insetti ospiti ma migliora la loro resistenza alle alte temperature (Finnegan *et al.*, 1999).

Efficacia relativa e parametri di applicazione

I nematodi entomopatogeni sono estremamente specifici e non alterano l'ambiente come gli insetticidi chimici (Ehlers e Peters, 1995). In alcuni casi, i nematodi entomopatogeni hanno dimostrato di essere sicure ed efficaci alternative ai prodotti chimici, ma in altri non sono riusciti a competere con successo (Georgis *et al.*, 2006). I vantaggi tecnologici nella produzione, nella formulazione, nel controllo qualitativo, nel tempo di applicazione e distribuzione dei nematodi e, particolarmente, nella selezione ottimale degli habitat e degli infestanti da colpire hanno ridotto notevolmente il divario di efficacia tra agenti chimici e nematodi (Vashisth *et al.*, 2013).

I nematodi entomopatogeni sono estremamente versatili in diversi terreni e nella lotta a molti insetti infestanti, eppure sono poco utilizzati.

I fattori abiotici che più influenzano la sopravvivenza e l'efficacia dei nematodi entomopatogeni sono la disidratazione e le temperature estreme (Glazer, 2002), nonché l'attacco che le larve infestanti nel suolo possono subire ad opera di microbi o invertebrati antagonisti (Kaya, 2002). Inoltre, i nematodi sono efficaci in un range di temperature compreso tra i 20°C e i 30°C e sono influenzati da tipo di terreno, profondità della zappatura e frequenza di irrigazione (Georgis e Gaugler, 1991; Shapiro-Ilan *et al.*, 2006).

Basandosi sulla biologia dei nematodi entomopatogeni, l'applicazione degli stessi deve avvenire in modo da evitare l'esposizione diretta ai raggi solari, come ad esempio con trattamenti al suolo di mattina presto o nel pomeriggio. Dopo i trattamenti, i terreni coinvolti devono essere mantenuti umidi per almeno le due settimane successive all'immissione nell'ambiente dei nematodi (Klein, 1993). Le applicazioni fuori terra delle zone da sottoporre a trattamento sono rese difficili dalla alta sensibilità dei nematodi alla disidratazione e all'azione dei raggi UV. Il metodo più comune di diffusione dei nematodi entomopatogeni è l'utilizzo di formulazioni solubili in acqua da applicare mediante spray, direttamente sul suolo.

I nematodi sono compatibili con tutte le più comuni attrezzature di diffusione spray commercialmente disponibili, come ad esempio le doccette o gli spray a terra e gli atomizzatori (Georgis *et al.*, 1995).

La quantità di nematodi da distribuire sul sito di interesse, affinché siano efficaci nel controllo degli infestanti, è, generalmente, di 25 larve infettive per cm² di area da sottoporre a trattamento. La quota di nematodi entomopatogeni da distribuire, inoltre, può variare a seconda delle condizioni del terreno e degli infestanti da controllare (Shapiro-Ilan *et al.*, 2002).

Habitat e Infestanti ospiti

I nematodi entomopatogeni dei generi *Steinernema* e *Heterorhabditis* sono organismi che vivono esclusivamente nel suolo e sono stati isolati in ogni continente abitato in un largo range di habitat inclusi i campi coltivati, le foreste, le praterie, i deserti e le coste oceaniche (Hominick, 2002;

Lalramliana e Yadav, 2010). I nematodi entomopatogeni sono stati testati contro un grande numero di insetti infestanti con risultati che variano dalla non reazione all'eccellente controllo. In laboratorio (contatto con l'ospite assicurato, condizioni sperimentali ottimali, assenza di barriere ecologiche e comportamentali) l'efficacia dei nematodi è stata vista per molti insetti infestanti (Gaugler 1981 e 1988). Il range di ospiti idonei ed attaccabili, però, nella sperimentazione in pieno campo viene ad essere ridotto. L'accoppiamento tra biologia ed ecologia sia per i nematodi che per gli infestanti bersaglio è di fondamentale importanza affinché l'utilizzo dei nematodi stessi abbia efficacia nella riduzione degli ospiti (Grewal *et al.*, 2005).

I principali gruppi di insetti, controllati dai nematodi entomopatogeni, sono: grillotalpe, pulci, blatte, tripidi, nottuidi, agrotidi, cossidi, sisidi, curculionidi, crisomelidi, scarabeidi, phoridi, sciaridi, agromizidi, muscidi.

CAPITOLO 5

Sperimentazione con nematodi entomopatogeni per il
controllo delle cydie

Data l'importanza economica e sociale del settore castanicolo in Italia, il controllo dei suoi infestanti, mediante strumenti consoni alla lotta biologica, è un nodo cruciale delle strategie aziendali volte all'implementazione della produzione con prodotti bio e di qualità, nonché al consolidamento dell'azienda, all'interno del mercato nazionale ed internazionale.

L'utilizzo di nematodi entomopatogeni nel controllo di insetti quali lepidotteri e coleotteri, gli infestanti più comuni e dannosi per le castagne, è già stato ampiamente studiato e verificato in laboratorio. Però, le sostanziali differenze tra le condizioni ambientali sperimentali ricreate in laboratorio e quelle in cui, realmente, i nematodi entomopatogeni si ritrovano ad agire, fanno sì che si necessiti di ulteriori studi in campo al fine di valutarne l'effettiva efficacia nel controllo degli insetti ospite infestanti.

La presente sperimentazione si pone l'obiettivo di valutare il controllo di infestanti, quali le *Cydie* del castagno (*Pammene fasciana*, *Cydia fagiglandana* e *Cydia splendana*), ad opera di nematodi entomopatogeni del genere *Steinernema*. In particolare, è stata impiegata la specie *Steinernema carpocapsae*.

La *Steinernema carpocapsae* è la specie maggiormente studiata tra quelle rientranti nei nematodi entomopatogeni. Questa specie è particolarmente efficace nei confronti delle larve di lepidotteri e rientra tra i nematodi entomopatogeni "ambush forager", ovvero nematodi entomopatogeni che procacciano i parassiti ospiti stando in posizione eretta sulla coda in prossimità della superficie del terreno (Kuske *et al.*, 2005). Ne consegue che la *S. carpocapsae* risulta molto efficace rispetto a parassiti dalla grande mobilità sul terreno ed efficace con alcuni parassiti ospiti che si trovano sotto terra. Inoltre, essendo questa specie di nematode entomopatogeno reattivo nei confronti del biossido di carbonio, quando intercetta un possibile ospite, riesce a trovare una facile strada di accesso dagli orifizi respirativi. Temperature comprese tra i 22°C e i 28°C favoriscono una maggiore efficacia di questo nematode.

La sperimentazione, iniziata nel 2015 e con termine nel 2016, coinvolge 3 campi, tutti con sesto d'impianto 5x5, due dei quali localizzati nel comune di Roccamonfina e il restante nel comune di Petina.

I campi localizzati nel comune di Roccamonfina (CE) sono stati messi a disposizione dall'Azienda Agricola Conti Mario (campo identificato dalla particella 00079 del foglio 23) e dall'Azienda Agricola Di Pippo Franco (campo identificato dalla particella 00050 del foglio 17). Mentre, il campo situato nel comune di Petina (SA), facente parte dell'Azienda Agricola Zito Pietro Antonio, è identificato dalla particella 28 del foglio 23 dello stesso comune.

Materiali e metodi

Ognuno dei campi impiegati nella sperimentazione con nematodi entomopatogeni è stato suddiviso in due parcelle equivalenti, denominate A e B (dimensioni di circa 0,5 ha ciascuno).

Mentre il campo A è stato trattato con i nematodi entomopatogeni, nel campo B sono state applicate solo le normali buone pratiche agricole ed è stato il campo di controllo.

Il preparato a base di nematodi entomopatogeni utilizzato è il Nemastar (Biogard, divisione della CBC Europe), contenente nematodi della specie *Steinernema carpocapsae*. Il prodotto si presenta in confezioni da 500 milioni di nematodi entomopatogeni in polvere bagnabile. La temperatura di utilizzo ottimale è compresa tra i 12 °C e i 30 °C. La dose per singolo trattamento è stata quantificata in circa 1,5 miliardi di larve di nematodi entomopatogeni per ettaro.

La dispersione sul campo A è avvenuta previa diluizione del prodotto in 5-10 litri di acqua, avendo cura di agitare fino a completa dissoluzione della polvere bagnabile. Quindi, la stessa è stata portata al volume desiderato nei serbatoi di alimentazione e dispersa sul suolo mediante lance con ugelli dal diametro non inferiore ai 0,5 mm e con una pressione non superiore ai 5 bar (ponendo attenzione alla rimozione di ogni possibile filtro presente) utilizzando pompe posizionate su trattori o a spalla. La dose di acqua utilizzata è stata di 1.000 litri/ettaro.

Al fine di ricreare le condizioni ottimali per l'azione della *S. carpocapsae*, il terreno è stato inumidito e mantenuto tale, almeno per una profondità di 10 cm, prima della loro dispersione e si è provveduto all'irrigazione e al mantenimento di tale umidità almeno per le prime tre settimane successive al trattamento.

Sono stati programmati due trattamenti annuali, uno nel periodo primaverile (maggio), durante il risveglio vegetativo della pianta, e uno in autunno (novembre), alla fine della raccolta del prodotto castanicolo. Questi periodi coincidono con lo svernamento al suolo come larve delle tre tortrici. La scelta del periodo migliore per la conduzione del trattamento è cruciale per la sostanziale dipendenza dei nematodi entomopatogeni da una buona umidità del terreno, derivante dalle precipitazioni atmosferiche e, se necessario, da irrigazioni di supporto. Il primo trattamento, programmato per la sperimentazione con i nematodi entomopatogeni nel controllo delle *Cydie* del castagno, è stato effettuato nel maggio del 2015.

La valutazione del controllo sulla popolazione dei lepidotteri in esame è stata condotta mediante l'installazione di trappole feromoniche (Biogard, divisione CBC Europe), specifiche per il monitoraggio di ognuna delle tortrici, durante il loro periodo di volo.

L'installazione delle trappole è avvenuta verso la metà mese di giugno, corrispondente all'inizio dello sfarfallamento della *P. fasciana*, e sono state monitorate fino alla terza settimana del mese di settembre, alla fine del periodo di sfarfallamento della *C. splendana* e della *C. fagiglandana*. Le trappole sono state posizionate al centro dei campi sperimentali e di controllo, per un totale di nove trappole/campo, su rami ad un'altezza di circa 1,80 metri e distanziate di circa 5 metri tra di loro (Figura 25). Si è provveduto ai rilievi delle trappole feromoniche con cadenza settimanale e alla sostituzione della fiala contenente i feromoni ogni 45 giorni.

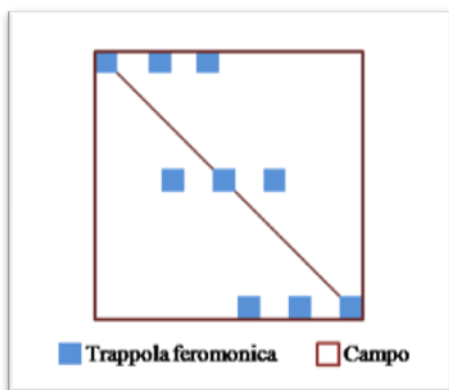


Figura 25 Posizionamento trappole

La valutazione dell'azione dei nematodi entomopatogeni è avvenuta, inoltre, dall'analisi di castagne (campioni da 5,00 Kg ciascuno) prelevate dal centro di ogni campo sia trattato che di controllo. Le castagne raccolte sono state analizzate in laboratorio ed è stata valutata la percentuale di infestazione presente in ogni campo.

Le castagne analizzate sono state suddivise in: sane, bacate, ammuffite, bacate e ammuffite. Dal conteggio delle stesse è stata poi calcolata la percentuale di incidenza dell'infestazione da *Cydie*.

Nel novembre del 2015 è stato effettuato un nuovo trattamento con il prodotto Nemastar, a cui seguirà un trattamento nel mese di maggio 2016, seguendo le stesse modalità di conduzione utilizzate in maggio 2015. Nel corso del 2016, alla chiusura del ciclo di trattamento, verranno nuovamente effettuati i monitoraggi delle tortrici durante il loro periodo di volo e una nuova valutazione dell'incidenza delle infestazioni da lepidotteri sulle castagne durante la raccolta.

Risultati

I risultati ottenuti dalla raccolta delle trappole feromoniche e dalla conta delle *Cydie* ritrovate hanno mostrato l'andamento, durante il loro periodo di volo, della presenza delle stesse tortrici sul campo di sperimentazione, sia nella sezione trattata con i nematodi entomopatogeni che in quella tenuta come controllo.

Dato, che accomuna i tre campi sottoposti a sperimentazione con i nematodi entomopatogeni della specie *S. carpocapsae*, è stato lo slittamento dell'inizio del periodo di volo delle tortrici, dovuto a temperature non adeguatamente calde e alle condizioni climatiche intercorse.

Nei campi situati nel territorio di Roccamonfina (CE), rispettivamente dell'Az. Agr. Conti Mario e dell'Az. Agr. Di Pippo Franco, si è registrato un andamento comune delle tortrici. Dai Grafici 2 e 3 si può notare come l'inizio del periodo di volo si ha a partire dalla terza settimana di luglio e gli stessi mostrano una sostanziale differenza tra il campo di controllo e quello sottoposto a trattamento dove si registra un numero minore di tortrici catturate.

I dati (Grafico 4) rilevati nel campo situato nel comune di Petina (SA), facente parte dell'Az. Agr. Zito Pietro Antonio, mostrano l'inizio dello sfarfallamento a partire dalla quarta settimana di luglio. Anche in questo caso, i risultati mostrano una sensibile riduzione della presenza delle tre tortrici ad opera dei nematodi entomopatogeni nel campo sottoposto a trattamento rispetto al campo di controllo.

La diminuita presenza delle *Cydie* nei tre campi trattati con i Nemastar è attribuibile alla presenza dei nematodi entomopatogeni, che, favoriti da una stagione molto piovosa, hanno avuto una persistenza nel terreno elevata proprio nel periodo di volo delle stesse tortrici.

Grafico 2 Andamento dello sfarfallamento delle *cydie* del castagno – Campo dell’Az. Agr. Conti Mario

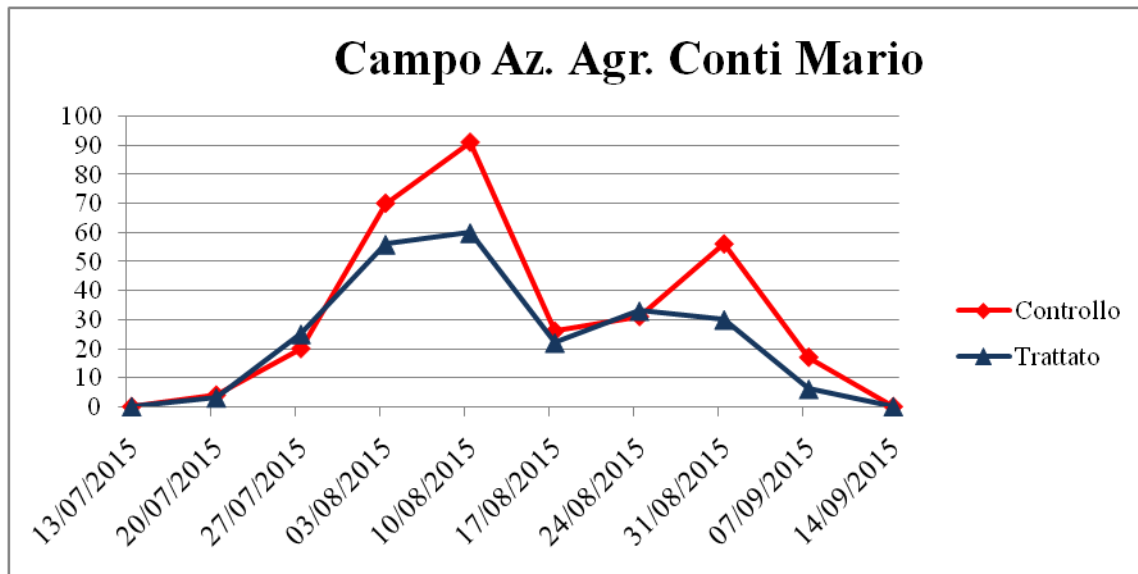


Grafico 3 Andamento dello sfarfallamento delle *cydie* del castagno – Campo dell’Az. Agr. Di Pippo Franco

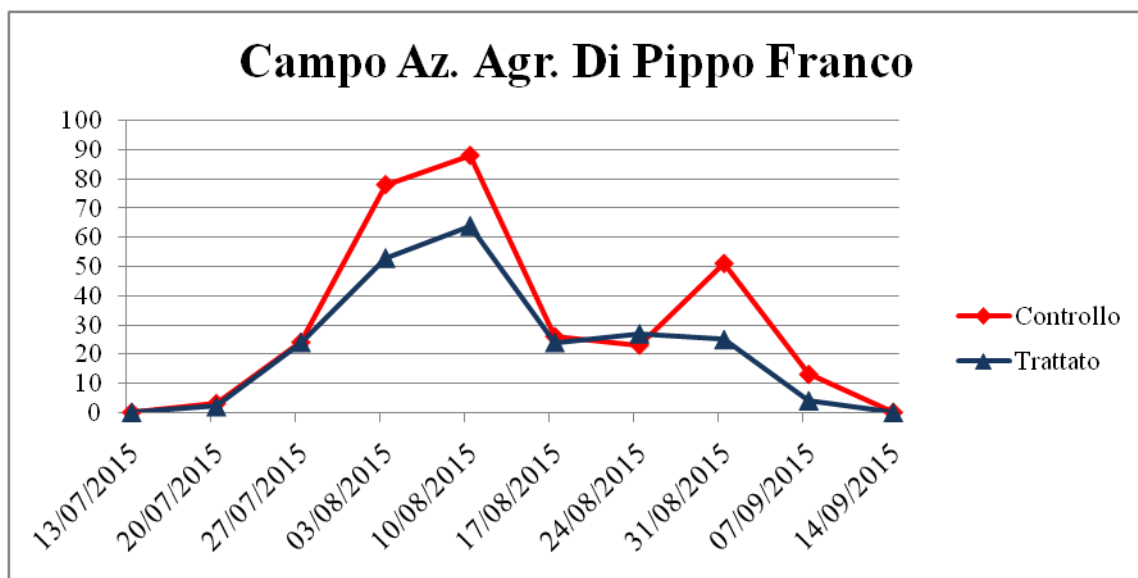
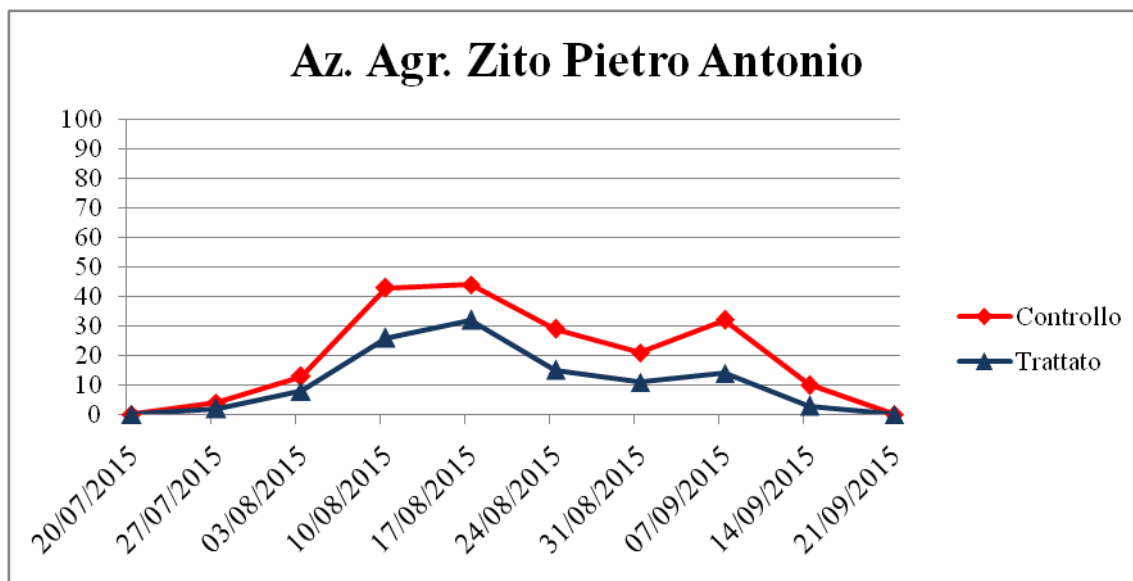


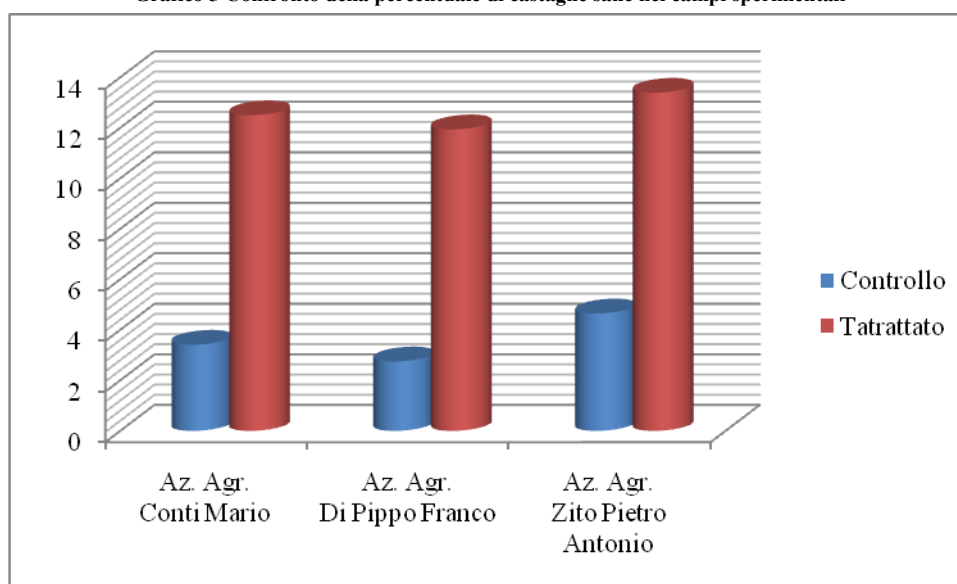
Grafico 4 Andamento dello sfarfallamento delle *cidie* del castagno – Campo dell’Az. Agr. Zito Pietro Antonio



L’analisi della qualità del prodotto castanicolo, in termini di quantificazione dell’infestazione ad opera delle tortici, è stata condotta mediante raccolta, nel centro dei campi trattati e di controllo, di 5,00 Kg di castagne. Le stesse in laboratorio sono state aperte ed è stata calcolata la percentuale delle castagne colpite dalle cidie e la percentuale del prodotto sano.

Il Grafico 5, relativo ai campi delle tre aziende agricole, mostra come la percentuale delle castagne sane risulti essere sensibilmente più alta nei campi trattati con i nematodi entomopatogeni. Infatti, è stata riscontrata una diminuzione delle castagne che presentavano i sintomi delle infestazioni da cidie e balanino.

Grafico 5 Confronto della percentuale di castagne sane nei campi sperimentali



Conclusioni

L'eccellenza della castanicoltura italiana e campana, in primo luogo, è un punto di forza dell'economia del nostro territorio. La crisi che ha coinvolto questo comparto agricolo, negli ultimi anni, ha messo a dura prova tutta la filiera castanicola ed in primo luogo i produttori. La scelta di produrre un prodotto di qualità e biologico è stata attuata da molti castanicoltori. Quindi, l'utilizzo di microrganismi, capaci di interagire e controllare la presenza dei maggiori infestanti del castagno e del suo prodotto, assume un ruolo di primaria importanza per la conduzione dei castagneti in regime di coltivazione biologica.

I nematodi entomopatogeni risultano essere i candidati ideali per il controllo delle tortrici del castagno, rispettando la salute del castagno, dell'ambiente e degli altri esseri viventi non rientranti nei loro ospiti target.

Essendo stati condotti studi per lo più in laboratorio sull'efficacia di questi microrganismi, con questa sperimentazione se ne è voluta verificare l'effettiva efficacia anche in campo. I risultati ottenuti hanno confermato che la presenza delle tre cidie del castagno viene controllata dai nematodi entomopatogeni appartenenti alla specie *Steinernema carpocapsae*, portandola sotto la soglia di danno.

La sperimentazione presentata è solo alle sue fasi iniziali, per cui verranno condotti ulteriori trattamenti e monitoraggi al fine di verificare l'evolversi del microambiente interessato e gli stessi verranno implementati per la valutazione di altre specie di nematodi entomopatogeni capaci di attaccare altri infestanti del castagno, come il balanino.

A cura di Oasis srl:

Dott.Per. Agr. Davide Della Porta

Dott.ssa Ing. Sonia Raimo

Dott.ssa Chimico Erika Della Porta

Dott.ssa Biologo Valentina De Vito

Dott. Per Agr. Simona Carpenito

Si ringrazia per la collaborazione l'Az. Agr. Conti Mario, l'Az. Agr. Di Pippo Franco e l'Az. Agr. Zito Pietro Antonio

BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA

www.fao.org

Ministero delle politiche agricole alimentari e forestali (2010), Piano del settore castanicolo 2010/2013 – Documento di sintesi, 2010

A.R.E.F.L.H. (2012), Libro bianco della castagna europea, www.areflh.org, Settembre 2012.

<http://ec.europa.eu/eurostat>

VI Censimento generale dell'agricoltura 2010 (2010), Istituto nazionale di statistica, www.istat.it.

MIPAAF (2015), Elenco dei prodotti DOP, IGP e STG, www.politicheagricole.it.

Cristinzio G., Testa A. (2006), Il castagno in Campania – Problematiche e prospettive della filiera, Società Editrice Imago Media, 2006.

www.agricoltura.regione.campania.it

Ingingo A., Ingingo M., Della Porta D., Della Porta P. (2006), Campania: Terra di castagna aspetti tecnici e di mercato, Edizioni Oasis, 2006.

Servizio tecnico agrario associato C.M. Valle Gesso e Vermenagna e C.M. Bisalta, Note tecniche di castanicoltura.

D'Adda S. (2011), Il Castagno da frutto e la Selva castanile - Ecologia e morfologia del castagno da frutto, il recupero della selva castanile abbandonata, le regole della potatura, Novembre 2011.

Pollini A. (2013) Entomologia Applicata, Edagricole - New Business Media, 2013.

Whipps J. M., Lumsden R. D. 2001. Commercial use of Fungi as Plant disease Biological Control Agents: Status and prospects. In: Butt T. M., Jackson C. W., Magan N. (ed.). Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential. CAB International Publishing, Wallingford, UK. 9-22.

Koppenhöfer A. M., Kaya H. K. (2001), Entomopathogenic nematodes and insect pest management. In: Advances in Biopesticide research, Vol. 2(O. Koul, Ed.), Harwood Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands, Pp-277-305.

Boemare N. E., Akhurst, R. J., Mourant, R. G. (1993), DNA relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to a new genus, *Photorhabdus* gen. nov. *Int J Sys Bact.*, 43: 249-255.

Blaxter M. L, DeLey P., Gary J. R., Liu L. X., Scheldeman P., Vierstraete A. (1998), A molecular evolutionary framework for the phylum Nematoda. *Nature.*, 392: 71-75.

Georgis R., Gaugler R. (1991), Predictability in biological control using entomopathogenic nematodes. *J Econ Entomol.*, [Forum] 84: 713-20.

Georgis R., Kaya H., Gaugler R. (1991), Effect of steinernematid and heterorhabditid nematodes on non target arthropods. *Environ Entomol.*, 20: 815-22.

Akhurst R., Smith K. (2002), Regulation and safety. In: Gaugler, R. (Ed.), *Entomopathogenic Nematology*. CABI, New York, NY, pp-311-332.

Vashisth S., Chandel Y. S., Sharma P. K. (2013), Entomopathogenic nematodes – A review, *Agri. Reviews*, 34: 163-175, 2013.

Shapiro-Ilan D. I., Gaugler R., Nematodes, www.biocontrol.entomology.cornell.edu.

Wang Y., Gaugler R. (1999), Host and penetration site location by entomopathogenic nematodes against Japanese beetle larvae. *J Invertebr Pathol.*, 72: 313-318.

Hazir S., Kaya H. K., Stock S. P., Keskun N. (2003), Entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) for biological control of soil pests. *Turk J Biol.*, 27: 181-202.

www.pestoreca.com

Selvan S., Gaugler R., Lewis E. E. (1993), Biochemical energy reserves of entomopathogenic nematodes. *J of Parasitol.*, 79: 167-172.

Fitters P. F. L, Patel M. N, Griffin C. T., Wright D. J. (1999), Fatty acid composition of *Heterorhabditis* sp. During storage. *Comp Biochem Physiol.*, 124: 81-88.

Qiu L., Bedding R. (2000), Energy metabolism and its relation to survival and infectivity of infective juveniles of *Steinernema carpocapsae* under aerobic conditions. *Nematology.*, 2: 551-559.

Thruston G. S., Y. N., Kaya H. K. (1994), Influence of salinity on survival and infectivity of entomopathogenic nematodes. *J Nematol.*, 26:345-351.

Griffin C. P., Finnegon M. M., Downes M. J. (1994), Environmental Tolerances and the dispersal of *Heterorhabditis*: Survival and infectivity of European *Heterorhabditis* following prolonged immersion in seawater. *Fundam and Appl Nematol.*, 17:415-421.

Finnegan M. M., Downes M. J., Regan M. O., Griffen C. T. (1999) Effect of salt and temperature stress on serviva and infectivity of Heterorhabditis spp. Infective juveniles. Nematology., 1:69-78.

Ehlers R. U., Peters A. (1995), Entomopathogenic nematodes in biological control: feasibility, perspectives and possible risks. In: Hokkanen, HMT and Lynch JM (eds.) Biol. Control: Benefits and Risks. Cambridge University Press, UK, pp- 119-136.

Georgis R., Koppenhoper A. M., Lacey L. A., Belair G., Duncan L. W., Grewal P. S., Samish M., Tan L., Torr P., VanTol R. W. H. M. (2006), Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. Biol Control., 38: 103–123.

Glazer I. (2002), Survival biology. In: Gaugler R 9ed.) EPN., CAB International, Wallingford, UK, pp-169-187.

Kaya H. (2002), Natural enemies and other antagonists. In Gaugler R (ed.). EPN., CAB International, Wallingford, UK, pp-189-203.

Shapiro-Ilan D. I., Gouge D. H., Piggott S. J., Patterson Fife J. (2006), Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. Bio Control., 38: 124-133.

Klein M. G. (1993), Biological control of scarabs with entomopathogenic nematodes. In: Bedding, R., Akhurst, R., Kaya, H. (Eds.), Nematodes and the Biological Control of Insect Pests. CSIRO Press, East Melbourne, Australia, pp-49–58.

Georgis R., Dunlop D. B., Grewal P. S. (1995), Formulation of entomopathogenic nematodes. In FR Hall and JW Barry (eds.), Biorational Pest Control Agents : Formulation and Delivery, ACS Symposium Series No. 595. Amer. Chem. Soc., Washington, DC, pp-197-205.

Shapiro-Ilan D. I., Gaugler R. (2002), Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. J Ind Microbiol Biot., 28: 137-146.

Hominick W. M. (2002), Biogeography. In: Gaugler, R. (Ed.), EPN., CABI, New York, NY, pp-115-143.

Lalramliana, Yadav A. K. (2010), Laboratory evaluation of the pathogenicity of three entomopathogenic nematodes against larvae of cabbage butterfly, *Pieris brassicae* Linnaeus (Lepidoptera: Pieridae). Science Vision 9 (4): 166-173.

Gaugler R. (1981), Biological control potential of neoaplectanid nematodes. J Nematol, 13: 241-249.

Gaugler R. (1988), Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insect pests with entomopathogenic nematodes. *Agricult Ecosys Environ.*, 24:351-360.

Grewal P. S., Ehlers R-U, Shapiro-Ilan D. I. (2005), *Nematodes as Biocontrol Agents*. CABI, New York, NY.

Kuske S., Daniel C., Wyss E., Sarraquigne J-P., Jermini M., Conedera M., Grunder J. M. (2005), Biocontrol potential of entomopathogenic nematodes against nut and orchard pests. In *Insect pathogens and insect parasitic nematodes: melolonta*. IOBC/wprs Bulletin Vol. 28(2) 2005:163-167.

Bioteecnologie nella difesa delle colture
di eccellenza in Campania:
Trichoderma in limonicoltura e
Nematodi entomopatogeni in castanicoltura

PARTE 2

Sperimentazione dei Trichoderma
per il miglioramento della salute delle piante in
limonicoltura

A cura di



Co.Va.L.



Sommario

Premessa	52
<i>La limonicoltura sulla Costa d'Amalfi</i>	53
La limonicoltura della costiera amalfitana	54
Il marchio I.G.P.	56
Disciplinare di produzione dell'indicazione geografica protetta "Limone Costa d'Amalfi"	56
La coltivazione dei limoni in Costa d'Amalfi	60
Il terrazzamento	60
La copertura	61
La cura delle piante	62
L'allevamento	63
La concimazione	63
La raccolta	64
<i>Problematiche agronomiche e fitosanitarie</i>	65
Le Normali Buone Pratiche Agricole (NBPA)	66
Lavorazioni	66
Potatura	66
Fertilizzazione	66
Irrigazione	67
Impegni agroalimentari oltre la Buona Pratica Agricola: gestione integrata e gestione biologica	67
Cambiamenti climatici	67
Problematiche fitosanitarie	67
Virosi	68
Batteri	69
Crittogame	69
Fitofagi	72
<i>Lotta biologica e benessere della pianta</i>	81
Lotta biologica	82
Trichoderma	87
Lotta biologica e miglioramento del benessere della pianta con <i>Trichoderma</i> spp.	89
Meccanismi d'azione DIRETTI	90
Meccanismi d'azione INDIRETTI	92
<i>La sperimentazione con <i>Trichoderma</i> spp.</i>	95
Materiali e metodi	96
Risultati	98
Conclusioni	102
<i>BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA</i>	103

Premessa

Lungo l'arco dei diecimila anni che hanno caratterizzato lo sviluppo dell'agricoltura, le piante selvatiche sono state selezionate da generazioni di contadini e popolazioni indigene per poterle coltivare nei più diversi luoghi e situazioni. Nel corso dei secoli, quindi, l'uomo, le piante coltivate e il loro ambiente si sono adattati reciprocamente e questo coadattamento è stato determinato sia dalle condizioni di clima e di suolo peculiari di ogni regione e zona, sia dalle diverse culture e civiltà degli abitanti. L'agricoltura tradizionale era caratterizzata dalla presenza di un ricco patrimonio genetico, un enorme mosaico di varietà ed ecotipi locali. La moderna produzione agricola per ragioni economiche ha, al contrario, l'esigenza di poche varietà, molto omogenee nell'aspetto, nella qualità e nei tempi di produzione, facilmente trasportabili e conservabili. Le necessità di una agricoltura di massa comportano l'estinzione di molte piante locali con caratteristiche peculiari di gusto e qualità. L'affermazione di poche specie selezionate secondo parametri di efficienza economica, sta mettendo in serio pericolo la biodiversità (o diversità biologica): un patrimonio di risorse genetiche la cui difesa è diventata una priorità a livello mondiale (nel 1992 nel corso della Conferenza delle Nazioni Unite a Rio de Janeiro è stata firmata una Convenzione sulla Biodiversità). La Costa d'Amalfi è una delle oasi salvatesi dalla crescente omogeneizzazione. Fiera della propria storia e delle antiche e gloriose tradizioni, si è opposta alla logica fredda del mercato e lotta per conservare e valorizzare le specificità che la caratterizzano. Lo "sfusato amalfitano" è un esempio virtuoso di biodiversità, d'interazione sinergica fra elementi naturali e intervento dell'uomo. La specifica base genetica, dono prezioso, è stata salvaguardata e valorizzata dal lavoro delle popolazioni locali, che hanno reso possibile la sua diffusione su un territorio originariamente poco adatto all'agricoltura e non vocato alla limonicoltura dal punto di vista climatico. Il paesaggio della Costa, infatti, è stato costruito attraverso una radicale trasformazione del territorio: il terrazzamento delle colline è un'opera paragonabile alla Muraglia cinese, per i volumi, o alle piramidi egiziane, per la maestria tecnica necessaria. L'intervento dell'uomo non si è limitato agli aspetti architettonici: il mantenimento nei secoli della limonicoltura in quest'area si deve alla cura costante degli agricoltori. La complessità delle opere permanenti, indispensabili per riparare dal freddo le piante, è tale da far considerare la coltivazione dei limoni in Costa d'Amalfi una coltura forzata che ha richiesto la definizione di tecniche colturali specifiche (Il Limone e la costa d'Amalfi, CO.VA.L 2001).

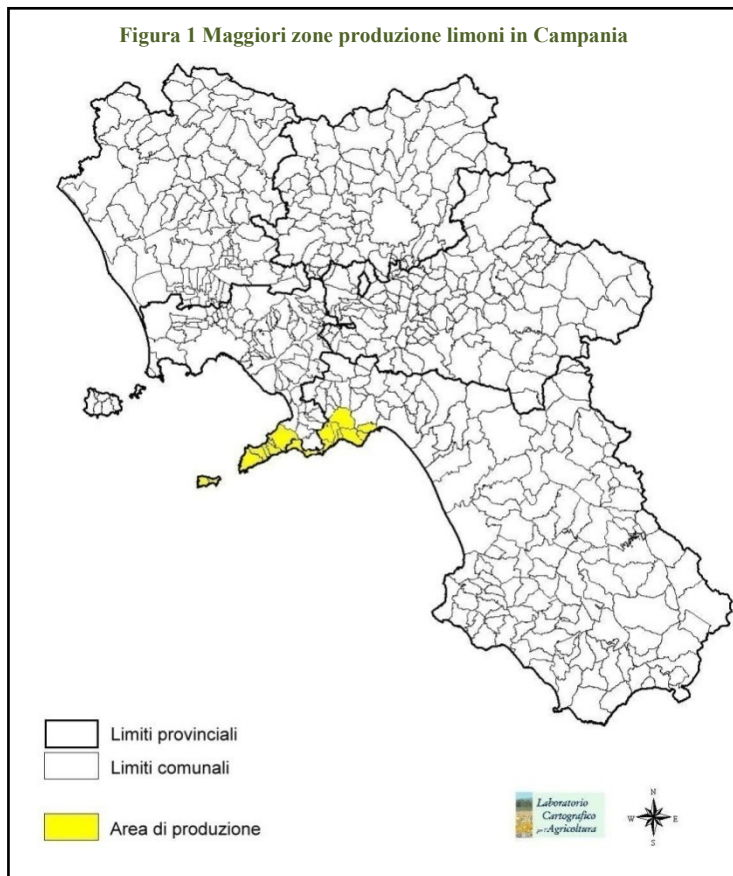
Le biotecnologie nella difesa delle colture e, in particolare, delle colture di eccellenza della Regione Campania sono una delle vie da percorrere per l'implementazione e la salvaguardia del Limone Costa d'Amalfi.

Il progetto BioTriNe volge la sua attenzione proprio allo studio delle dinamiche di azione e, soprattutto, alla risposta della pianta del limone all'utilizzo di trichoderma, per il miglioramento della salute delle piante stesse.

CAPITOLO 1

La limonicoltura sulla Costa d'Amalfi

Le zone dedite alla coltivazione del limone in Campania sono sostanzialmente tre: la **Costiera Amalfitana**, la **Penisola Sorrentina** e in misura minore nelle isole del golfo e nelle altre aree costiere, trovando un interesse strategico per l'agricoltura locale, non trascurando l'aspetto paesaggistico essendo aree a economia prevalentemente turistica (Figura 1). Complessivamente, il limone in Campania interessa un'area di circa 1.200 ha, di cui quasi 400 in penisola sorrentina, 400 in costiera amalfitana e 50 nell'isola di Procida. Le produzioni medie annue si aggirano intorno alle 260 mila t. In queste aree sono presenti tre cultivar di limone che presentano



caratteristiche del frutto specifiche e di pregio (Giuliano G., 2001). Nella penisola sorrentina è presente quasi esclusivamente l'Ovale di Sorrento, nella costiera amalfitana lo "Sfusato amalfitano" e a Procida il "Limone di Procida". È noto che tali varietà esprimono la limonicoltura tipica della Campania, che può vantare due marchi IGP di cui al Reg. CE n. 2081/92, il Limone di Sorrento IGP e il Limone Costa d'Amalfi IGP. La destinazione del prodotto trova collocamento nel consumo fresco, nella produzione del limoncello e, in maniera minore, nella produzione di confetture e nelle produzioni dolciarie.

La limonicoltura della costiera amalfitana

Nell'area di produzione del limone Costa d'Amalfi sono coltivati circa 400 ha destinati a limoneto (Figura 2). La produzione, calcolando una media di 200 quintali per ettaro, supera le 8.000 tonnellate. I dati di produzione effettiva sono stati riconducibili ai dati statistici fino all'ultimo anno, quando l'ultima produzione annua ha visto un calo di circa il 50% a causa dei fenomeni meteorologici, intensi e continui, che hanno segnato gli ultimi periodi, a seguito dei cambiamenti climatici che stanno verificandosi e mettendo a dura prova l'agricoltura nazionale e mondiale.

L'importanza del limone in Costa d'Amalfi si esprime su differenti piani: accanto a quello



strettamente economico, ci sono aspetti di ordine sociale, storico, turistico e di assetto del territorio che non possono essere trascurati.

Dal punto di vista turistico, infatti, i terrazzamenti di limoni hanno trasformato il paesaggio della Costa d'Amalfi, modificando le preesistenti colline rocciose dal rado manto erboso in veri e propri giardini rigogliosi. Dal punto di vista ecologico e di conservazione del territorio non va sottovalutata la preziosa funzione svolta dai terrazzamenti nel controllo delle acque e in generale nell'assetto

idrogeologico del territorio. Le cure di cui le piante di limone necessitano e la manutenzione dei muri necessari per il contenimento dei terrazzamenti sono indispensabili per evitare pericolosi dissesti e frane.

Infine, va considerata la stretta connessione tra limonicoltura e popolazione. L'accentuato frazionamento delle proprietà, infatti, ha comportato la presenza di limoneti, di grandi o piccole dimensioni, praticamente in ogni nucleo familiare. L'importanza e la peculiarità del limone Costa d'Amalfi sono, quindi, caratteri non scindibili dal substrato sociale del territorio.

La varietà di limoni coltivata in Costa d'Amalfi è lo **Sfusato amalfitano**. Questo limone si presenta con una forma allungata e puntuta, molto caratterizzante, e dal



Figura 3 Limone Costa d'Amalfi

profumo intenso (Figura 3). Studi scientifici hanno dimostrato le peculiarità organolettiche dello Sfusato amalfitano. Le ricerche, condotte dall'Università di Napoli nell'area limonica campana sulle diverse varietà coltivate, hanno stabilito che il limone della Costa d'Amalfi possiede una particolare base genetica che rende il frutto particolarmente interessante non solo per il consumo

diretto ma, anche per il suo utilizzo nell'azienda di trasformazione, in particolare per la produzione del limoncino.

Le caratteristiche dello Sfusato sono:

- Peso medio elevato;
- Numero elevato di ghiandole oleifere, pari a quello dell'Ovale di Sorrento e superiore a quello degli altri limoni studiati;
- Spessore di flavedo (parte gialla della buccia) superiore rispetto a quello degli altri limoni;
- Contenuto elevato di acido ascorbico (vitamina C).

Numero di ghiandole oleifere e spessore di flavedo elevati sono, quindi, le caratteristiche peculiari dello Sfusato, donandogli un potere aromatizzante più accentuato rispetto alle altre varietà di limone.

Ulteriori studi sono stati condotti dalle Università di Salerno e Reggio Calabria sulle caratteristiche compositive degli oli essenziali, contenuti nella buccia, dei limoni amalfitani e sorrentini (Poiana et al., 1999).

In generale, le caratteristiche aromatizzanti di un estratto di limone sono dovute principalmente alla frazione dei composti ossigenati presenti nel flavedo. Dalla ricerca è emerso che il contenuto in composti ossigenati nei limoni della Costa d'Amalfi è più del doppio del contenuto dell'estratto degli altri limoni esaminati e che vi sono importanti diversità compositive rispetto agli oli essenziali del limone riportati in letteratura.

Il marchio I.G.P.

A seguito di questi fattori socio-economici e di fattori scientifici, che hanno dimostrato le caratteristiche uniche del limone Costa d'Amalfi, nel 2001 è stato ottenuto il marchio di Indicazione Geografica Protetta per questo prodotto.

Disciplinare di produzione dell'indicazione geografica protetta "Limone Costa d'Amalfi"

Pubblicato sulla Gazzetta Ufficiale Serie generale n. 93 del 20.04.2000

Art 1.

L'Indicazione Geografica Protetta (I.G.P.) "Limone Costa d'Amalfi" è riservata ai limoni che rispondono alle condizioni e ai requisiti stabiliti dal Reg. CEE n. 2081/92 e dal presente disciplinare di produzione.

Art. 2

L'Indicazione Geografica Protetta (I.G.P.) "Limone Costa d'Amalfi" designa i limoni prodotti dalla zona delimitata al successivo art. 3 del presente disciplinare, riferibili alla cultivar "Sfusato" avente le caratteristiche afferibili all'ecotipo amalfitano.

Art. 3

La zona di produzione del "Limone Costa d'Amalfi" di cui al presente disciplinare comprende: l'intero territorio del comune di Atrani; parte del territorio dei comuni di: Amalfi, Cetara, Conca dei Marini, Furore, Maiori, Minori, Positano, Praiano, Ravello, Scala, Tramonti, Vietri sul Mare. La descrizione del confine è effettuata dall'estremo ovest fino a raggiungere l'estremo est. Il confine sud è individuato dal Mar Tirreno. (...)

Art. 4

Il sistema di coltivazione deve essere quello tradizionalmente adottato nella zona, fortemente legato ai peculiari caratteri orografici e pedologici. Le unità colturali tipiche prevalenti sono costituite da terrazzamenti inglobati in muretti di contenimento (macere). I sesti e le distanze di piantagione ed i sistemi di potatura dei limoneti di cui al presente disciplinare sono quelli in uso tradizionale nella zona. La forma di allevamento è riconducibile ad un vaso libero, detta localmente "cupola", adattata ad un idoneo sistema di copertura. E' facoltà degli organi tecnici regionali ammettere anche forme di allevamento diverse, nel rispetto comunque delle specifiche caratteristiche di qualità del prodotto descritte nel successivo art. 6. La tecnica tradizionale di produzione consiste nel coltivare le piante sotto impalcature di pali di legno, preferibilmente di castagno (di altezza non inferiore a cm 180), utilizzando eventualmente coperture di riparo dagli agenti atmosferici avversi e per garantire una scalarità di maturazione dei frutti. La densità d'impianto non dovrà essere superiore ad 800 piante per ettaro. La raccolta va effettuata nel periodo che va dal 1 febbraio al 31 ottobre, in funzione del conseguimento delle caratteristiche qualitative di cui al successivo art. 6 e delle particolari richieste del mercato in tale periodo. Tuttavia, in considerazione soprattutto dell'andamento climatico dell'annata, la Regione Campania si riserva di modificare tali date con proprio provvedimento. La raccolta dei frutti dalla pianta deve essere effettuata a mano; va impedito il contatto diretto dei limoni con il terreno. La produzione massima consentita di limoni per ettaro ammessa a tutela non deve superare le 25 tonnellate in coltura specializzata o promiscua (in tal caso si intende la produzione ragguagliata). I limoni raccolti devono presentarsi sani, indenni da attacchi parassitari, come per legge.

Art. 5

Gli impianti idonei alla produzione dell'I.G.P. "Limone Costa d'Amalfi", sono iscritti nell'apposito elenco, attivato, tenuto e aggiornato dalla Regione Campania, direttamente attraverso i propri uffici competenti per territorio o attraverso organismi conformi alle norme EN 45011. Gli organi tecnici sono tenuti a verificare, anche attraverso opportuni sopralluoghi, i requisiti richiesti per l'iscrizione all'elenco di cui sopra. Entro dieci giorni dalla data indicata di fine raccolta deve essere presentata, all'organismo che detiene l'elenco, la denuncia finale di

produzione dell'anno. Durante il periodo della raccolta, il predetto organismo può rilasciare, su conformi denunce di produzione, parziali ricevute di produzione.

Art. 6

Il prodotto ammesso a tutela, all'atto dell'immissione al consumo o quando è destinato alla trasformazione deve avere le seguenti caratteristiche:

- forma del frutto: ellittico-allungata;
- lobo pedicellare lievemente prominente, con area basale media; dimensioni medio-grosse, peso non inferiore a 100 grammi;
- i limoni con peso inferiore a 100 g ma in possesso delle altre caratteristiche di cui al presente articolo, possono essere destinati alla trasformazione;
- penduncolo: di medio spessore e lunghezza;
- attacco al peduncolo: forte;
- umbone (apice): grande e appuntito;
- solco apicale: quasi assente;
- residuo stilare: assente;
- colore della buccia: giallo citrino;
- buccia (flavedo ed albedo): di spessore medio;
- flavedo: ricco di olio essenziale, aroma e profumo forte;
- asse carpellare: rotondo, medio e semipieno;
- polpa: di colore giallo paglierino, abbondante (resa uguale o superiore al 25%) e con elevata acidità (non inferiore a 3,5/100 ml).

Art. 7

L'immissione al consumo del I.G.P. "Limone Costa d'Amalfi" deve avvenire secondo le seguenti modalità:

- Il prodotto deve essere posto in vendita in appositi contenitori rigidi, con capienza da un minimo di 0,5 kg fino ad un massimo di 15 kg, realizzati con materiale di origine vegetale, con cartone o con altro materiale riciclabile, consentito, in ogni caso, dalle normative comunitarie. Sono ammessi anche contenitori rigidi di cartone. Sulle confezioni contrassegnate ad I.G.P., o sulle etichette apposte sulle medesime, devono essere riportate, a caratteri di stampa chiari e leggibili delle stesse dimensioni, le seguenti indicazioni:
 - a) "Limone Costa d'Amalfi" e "Indicazione geografica protetta" (o la sua sigla I.G.P.);
 - b) il nome, la ragione sociale e l'indirizzo dell'azienda confezionatrice o produttrice;
 - c) la quantità di prodotto effettivamente contenuto nella confezione, espressa in conformità alle norme vigenti.

- Dovrà figurare, inoltre, il simbolo grafico relativo all'immagine artistica del logotipo specifico ed univoco, da utilizzare in abbinamento inscindibile con l'Indicazione Geografica Protetta. Il simbolo grafico è costituito da un limone affogliato che è posto sul lato sinistro di un doppio cerchio che racchiude su uno sfondo giallo la scritta di colore nero Limone Costa d'Amalfi. All'interno del doppio cerchio vi è il profilo della costa, da Maiori fino a Capo Conca mentre in primo piano vi è un cespuglio di macchia mediterranea. Il limone e lo sfondo sono di colore giallo pantone CV, mentre le foglie del limone, il cespuglio e la seconda linea di colline sono di colore verde pantone 369 CV, la prima e la terza linea di colline sono di colore verde pantone 349 CV, il mare di colore blu pantone 301 CV ed il cielo azzurro pantone 297 CV.
- Dovrà figurare, inoltre, la dizione "prodotto in Italia" per le partite destinate all'esportazione. I prodotti elaborati, derivanti dalla trasformazione del limone, possono utilizzare, nell'ambito della designazione degli ingredienti, il riferimento al nome geografico "Costa d'Amalfi" a condizione che rispettino le seguenti condizioni:
 1. i limoni, utilizzati per la preparazione del prodotto, siano esclusivamente quelli conformi al presente disciplinare;
 2. sia esattamente indicato il rapporto ponderale tra quantità utilizzata della I.G.P. "Limone Costa d'Amalfi" e quantità di prodotto elaborato ottenuto;
 3. l'elaborazione e/o la trasformazione dei limoni avvenga esclusivamente nell'intero territorio dei comuni individuati all'art. 3 del presente disciplinare;
 4. venga dimostrato l'utilizzo della I.G.P. "Limone Costa d'Amalfi" mediante l'acquisizione delle ricevute di produzione, rilasciate dai competenti organi della Regione ai sensi dell'art. 5 del presente disciplinare, e la annotazione sui documenti ufficiali.

Il controllo del corretto utilizzo dell'I.G.P. "Limone Costa d'Amalfi" per i prodotti elaborati e/o trasformati potrà essere delegato dall'organismo di controllo al consorzio di tutela e valorizzazione che ne faccia richiesta. Alla Indicazione geografica protetta, di cui all'art. 1, è vietata l'aggiunta di qualsiasi qualificazione aggiuntiva diversa da quelle previste dal presente disciplinare, ivi compresi gli aggettivi: tipo, gusto, uso, selezionato, scelto e similari. E' tuttavia consentito l'uso di indicazioni che facciano riferimento ad aziende, nomi, ragioni sociali, marchi privati, consorzi, non aventi significato laudativo e non idonei a trarre in inganno l'acquirente. Tali indicazioni potranno essere riportate in etichetta con caratteri di altezza e di larghezza non superiori alla metà di quelli utilizzati per indicare l'Indicazione Geografica Protetta.

Art. 8

Chiunque produce, pone in vendita, utilizza per la trasformazione o comunque distribuisce per il consumo, con la I.G.P. "Limone Costa d'Amalfi", un prodotto che non risponda alle condizioni

ed ai requisiti stabiliti dal presente disciplinare di produzione, è punito a norma di legge.

La coltivazione dei limoni in Costa d'Amalfi

I metodi di coltivazione e le tecniche colturali tipiche della Costa d'Amalfi sono un'arte raffinata nei secoli. La presenza dei limoneti ha profondamente modificato il paesaggio della Costiera. Infatti, gli agrumeti hanno dovuto farsi spazio in un territorio a picco sul mare e, quindi, di difficile accesso e manutenzione. La realizzazione dei terrazzamenti ha permesso la messa in opera dei limoneti, fornendo, oltre che la base per l'economia locale, anche la scenografia che coadiuva gli scenari unici della Costiera Amalfitana.

Le informazioni riguardanti la messa in opera e la gestione dei limoneti in Costa d'Amalfi risalgono agli inizi del 1900. Da allora, le pratiche colturali sono rimaste sostanzialmente invariate (Briganti G., 1912) .

Il terrazzamento

La tipica coltivazione della Costa (Figura 4) è fatta da terrazze sorrette da muri a secco (*macere*) con basamento, talvolta, in muratura con malta. Frequentemente l'altezza dei muri a secco è maggiore della larghezza della terrazza. In questi casi per permettere una maggiore stabilità al terrazzamento, nel muro a secco vengono inseriti pilastri, ad intervalli regolari, in muratura, uniti con archi, anch'essi in muratura. L'orlo superiore del muro a secco presenta un cordolo, detto comunemente *lacerto* o, in dialetto, *cottimo*. Da ogni terrazza, comunemente chiamata piazzetta, si accede a quella superiore con rampe e scale in muratura.

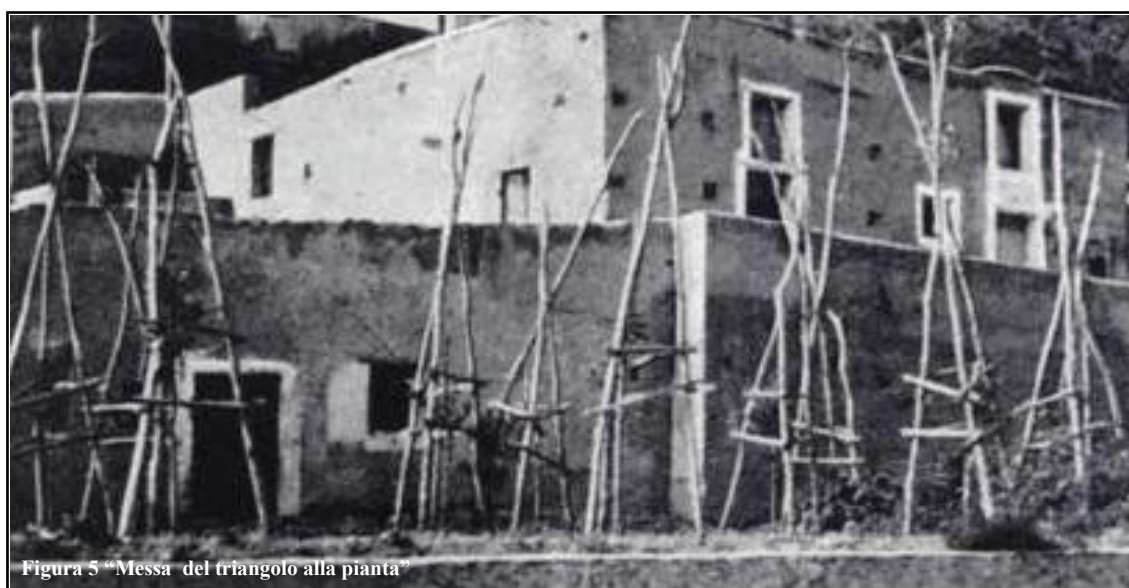


Figura 4 Terrazzamenti della Costiera Amalfitana

La copertura

Il clima invernale della Costa d'Amalfi si presenta mite, a causa dell'esposizione delle colline a mezzogiorno, della difesa offerta dalla catena montuosa che la sovrasta a nord e della vicinanza del mare. Tuttavia, i limoneti, data l'estrema delicatezza della pianta, devono essere diligentemente protetti dal freddo invernale con coperture dispendiose in termini economici.

La zona occupata dagli agrumeti è dominata principalmente dai venti di tramontana e di sud-ovest. I limoneti più vicini al mare sono coperti già in autunno per proteggerli dal vento marino, che volgarmente si chiama *schima*. Verso la fine di settembre o ai primi di ottobre, le piante, negli impianti più giovani, vengono riparate con una gabbia formata da tre pali di castagno alti 4-5 metri, fissati nel terreno per 40-50 centimetri. I pali, equidistanti tra loro e lontani dalla base



della pianta 40-50 centimetri, vengono uniti alla sommità formando, così, lo scheletro di una piramide triangolare. Questa operazione viene definita *mettere il triangolo alla pianta* (Figura 5). L'armatura permettere l'alloggio delle frasche di elce, collocate esternamente, che permetteranno la protezione dei teneri germogli del limone dal freddo invernale. Questa armatura è provvisoria e viene mantenuta, normalmente per tre o quattro anni. Dopo di che, si procede all'armatura definitiva, o *pergolato*.

Nel corso dei primi due anni, con lo scopo di poter dare la forma di vaso o coppa alla chioma, non viene eseguita una vera potatura di allevamento ma, si fa crescere la pianta liberamente legando alle traverse del triangolo le ramificazioni che si sviluppano sull'asse risultante dalla marza usata per l'innesto.

Alla fine del terzo o quarto anno, quando il triangolo viene sostituito dalla definitiva imperticata, le ramificazioni principali si legano alle pertiche orizzontali soprastanti la pianta.

Il pergolato definitivo si realizza fissando al centro di ogni quattro piante un robusto palo di castagno, detto puntale, della lunghezza di 3 metri, di cui 35-40 centimetri interrati. Al di fuori

dell'ultimo dell'ultimo filare a destra e a sinistra della terrazza si collocheranno altri puntali in corrispondenza di quelli fissati negli interfilari cosicché la pianta si ritrovi al centro di quattro pali. All'altezza di due metri, o poco più, ogni puntale viene unito ai quattro puntali prossimi mediante quattro pali posti orizzontalmente (*menatori*), appoggiandoli sopra delle mensolette di legno fatte a squadro, dette *zoccolette*, e fissati con robusti chiodi e filo di ferro alle estremità superiori dei puntali. L'armatura vista dall'alto sembra costituita da un largo reticolato a larghe maglie quadrate (Figura 6).



Figura 6 Pergolato a copertura dei limoneti

La cura delle piante

Le piante di limoni coltivate in Costa d'Amalfi portano ogni anno due tipi di rami: *bacchette* e *pongole*. Mentre le bacchette sono dei rami isolati, eretti, spesso molto sviluppati (anche oltre un metro), le pongole sono ramificazioni di 20-30 centimetri in direzione obliqua e si sviluppano, d'ordinario, all'estremo di ramificazioni risalenti all'anno precedente. Nelle piante adulte, in buono stato, si ha una produzione prevalente di pongole, mentre le bacchette si sviluppano di preferenza nelle piante giovani o nelle piante recanti sintomi di un recente deperimento.

Nel mese di ottobre, dopo le fasi di potatura, le nuove bacchette vengono legate, con rametti di salice, all'armatura di legno o alle ramificazioni principali della stessa pianta, in modo che ciascuna sporga, per un buon tratto, al di sotto del piano dell'armatura. Le bacchette piegate, quando la pianta è adulta, producono frutto l'anno successivo se ben lignificate. Invece, se la

pianta è giovane o le bacchette non risultano bene lignificate, si avrà produzione di pongolame, che l'anno successivo porterà frutto.

Le bacchette portano frutto sul lato mediano e all'estremità con un massimo di 10-15 limoni. Sul legno vecchio all'inserzione di ogni bacchetta, nell'anno successivo, nel periodo da maggio ad ottobre, si sviluppano una o due nuove bacchette. Le pongole, invece, portano altre pongole nell'anno successivo, assicurando una più abbondante fruttificazione.

La potatura della pianta di limone è semplice e si riduce alla soppressione, con le forbici, dei rami secchi o delle bacchette o pongole che hanno fruttificato e che sono avvizzite. Si tagliano, naturalmente, anche le ramificazioni dell'anno precedente che, colpite dal freddo, hanno perso i frutti e si sono disseccate. Solo dopo una produzione particolarmente abbondante o ogni 4/5 anni si pratica una potatura di sfollamento per ridurre il numero delle ramificazioni di due o tre anni.

L'allevamento

La pianta di limoni è allevata con due forme. La prima, detta *a coppa* o *a vaso*, ha due o tre ramificazioni principali che si biforcano, perfettamente vuota al centro e si mantiene sempre tale per tutta la durata della sua vita. La seconda, *a cupola*, è costituita normalmente di quattro branche di cui tre formano il vaso, o la coppa, e una centrale, che si eleva verticalmente per un'altezza di 70-80 centimetri e con le sue ramificazioni copre lo spazio superiore della coppa. La chioma in questo caso assume quasi l'aspetto sferico. Per le piante che crescono vicino al muro a secco del terrazzo superiore si usa far crescere le due branche principali rivolte a valle come per la forma a vaso, mentre le branche rivolte a monte si educano a spalliera, sostenute da pali infissi obliquamente nei muri a secco. In questo caso l'intelaiatura dei pali e la copertura risultano inclinati.

La concimazione

La concimazione si pratica tra la fine di febbraio e maggio contemporaneamente alla zappatura, mentre nei limoneti asciutti è frequentemente eseguita in autunno. La concimazione primaverile prevede l'utilizzo di concimi ad azione lenta. L'esperienza degli agricoltori e degli operatori di settore diviene, naturalmente, indispensabile per la somministrazione di concimi a base di prodotti ad azione rapida, in modo da andare a favorire la fioritura primaverile (da aprile a giugno) che è la maggiore per portata di fiori, quantità, pezzatura e soprattutto qualità dei frutti. Anticipando troppo la concimazione a cessione rapida, infatti, si può favorire una fioritura anticipata e, quindi, una produzione di frutti troppo grossi e precoci. Ritardando le azioni di concimazione, invece, si favorirebbe una fioritura oltre il mese di giugno con conseguente maturazione di limoni molto piccoli.

Nella quasi totalità dei limoneti si esegue una sola zappatura, tra la fine di febbraio ed aprile, che si limita a 12-15 centimetri di profondità. Nei terreni dove manca l'acqua, la lavorazione dovrebbe

essere dovrebbe essere più profonda per ostacolare lo sviluppo delle radici troppo superficiali a vantaggio di quelle che invadono gli strati più profondi del terreno. I limoneti irrigui ricevono l'acqua dai torrenti esistenti in costiera con derivazioni che, generalmente, sono state fatte nei pressi delle sorgenti o lungo il primo tratto del loro corso. Gli agricoltori utilizzano anche, con la più gran diligenza, le numerose piccole sorgenti che scaturiscono dalla roccia e che si contano a centinaia. A giugno-luglio si prepara la fonte per le irrigazioni alla base di ogni pianta disponendo il terreno a conca. Per le piante piccole, un diametro di circa un metro è la misura ottimale per la realizzazione delle conche. Nei limoneti adulti, invece, si squadra tutta la piazza in modo che ogni pianta sia compresa in una conca quadrata, separata dalla successiva per mezzo di un arginello.

Le piante piccole vanno irrigate anche dodici volte nella stagione estiva, mentre per quelle più grandi si calcolano tre o quattro annaffiature da circa 500-600 litri d'acqua ciascuna. Per un ettaro di limoneto si può calcolare un fabbisogno, per l'intera stagione estiva, di 1200-1600 metri cubi d'acqua.

La carenza d'acqua ingiallisce il frutto, mentre, con l'irrigazione, la buccia dei limoni acquista un colore giallo chiaro, con riflessi verdastri, aumentandone il pregio commerciale.

La raccolta

La raccolta nei paesi da Amalfi a Positano finisce ai primi di luglio, mentre a Maiori, Minori e Tramonti si arriva sino alla fine di settembre. La produzione è mediamente di 300 limoni a pianta e in casi eccezionali, con piante ben distanziate, si può arrivare fino a 600 limoni per pianta (circa 120 chilogrammi). Mentre, è considerata pianta da sostituire quella che produce meno di 200 limoni. La durata media produttiva di un limoneto è di circa ottanta anni, con una resa crescente fino al quarantesimo anno, ma vi sono comunque piante di limoni che hanno superato il secolo e mezzo.

CAPITOLO 2

Problematiche agronomiche e fitosanitarie

Agli agrumi, e pertanto al limone, sono legate una serie di problematiche agronomiche e fitosanitarie derivanti dalle condizioni climatiche in mutamento e dalla presenza di organismi infestanti.

Le Normali Buone Pratiche Agricole (NBPA)

Strumenti necessari per la gestione delle coltivazioni sono le normali buone pratiche agricole.

La Regione Campania ha stabilito queste buone norme di gestione della produzione agricola ed in particolare per la produzione fruttifera, in cui si colloca la limonicoltura (Regione Campania, Assessorato all'Agricoltura, Foreste, Caccia e Pesca, Gennaio 2001).

Lavorazioni

Le NBPA prevedono l'utilizzo di 3 lavorazioni annuali meccaniche con mezzi a bassa velocità periferica con franco di lavorazione superficiale (zappatrici rotative), in modo da modificare solo la struttura prossima alla superficie del terreno, con conseguente diminuzione dell'erosione. Laddove sia presente una buona disponibilità idrica e ci sia giustificazione, ad esempio nei terreni declivi per evitare fenomeni erosivi, nei terreni argillosi di difficile scolo delle acque, terreni strutturati o poveri di sostanze organiche, è buona prassi curare o prevedere l'inerbimento del sottofilare, al fine di migliorare la fertilità del terreno stesso ed il controllo degli infestanti. Il manto erboso deve essere controllato almeno 3 volte all'anno e i prodotti della falciatura devono essere lasciati in loco, in modo da aumentare la fertilità del terreno.

Potatura

Le azioni di potatura sono di fondamentale importanza per il corretto sviluppo della pianta e il miglioramento della sua produttività. Per le coltivazioni arboree, e quindi per il limone, sono previsti almeno un intervento di potatura invernale ed uno estivo, al fine di regolare la produzione.

Fertilizzazione

Le azioni di fertilizzazione devono essere condotte in autunno, dopo attenta valutazione delle necessità del terreno. Attraverso l'analisi del sottosuolo, infatti, è possibile indirizzare le attività di fertilizzazione verso le reali necessità del luogo, provvedendo quindi al reintegro delle sostanze di cui è carente. Le concimazioni organiche sono vietate durante il vegetativo delle specie fruttifere, per evitare l'elevato rilascio di azoto nei periodi in cui non ve ne è necessità per la pianta. Comunque, la fertilizzazione azotata deve essere limitata. Il reintegro di fosforo deve essere attuato durante il periodo invernale, mentre quella di magnesio e potassio nei periodi primaverili, attraverso l'uso di prodotto altamente solubili.

Irrigazione

Le irrigazioni e tutte le azioni volte al miglioramento del decorso e dell'approvvigionamento di acqua per le piante sono di fondamentale importanza nello sviluppo e nella gestione dei frutteti.

Il controllo delle acque meteoriche e la realizzazione di una rete idrica funzionale alle caratteristiche morfologiche del suolo coltivato si rendono indispensabili per la corretta somministrazione idrica alle piante.

Impegni agroalimentari oltre la Buona Pratica Agricola: gestione integrata e gestione biologica

In regime di agricoltura integrata, la fertilizzazione è limitata l'utilizzo di concimi semplici ed organici e del sovescio e le concimazioni fogliari sono permesse solo in caso di gravi carenze accertate. È possibile attuare azioni di diserbo su fila, per una larghezza massima di 70 cm, solo in impianti con età inferiore ai 3 anni, laddove le lavorazioni meccaniche risultino difficoltose e la pacciamatura organica rischiosa per motivi fitosanitari e in particolari condizioni in post-emergenza da infestanti. La difesa integrata prevede l'utilizzo di trappole specifiche per il monitoraggio degli infestanti, al fine di valutare la loro presenza, il loro stadio di sviluppo e, conseguentemente, la tipologia e l'entità degli interventi da programmare.

La difesa biologica delle colture si esprime sostanzialmente nella tipologia della concimazione e nelle tecniche di difesa dai agenti fitosanitari infestanti. I principi del regime biologico si basano sulle azioni preventive, su azioni volte alla differenziazione dell'agroecosistema per favorire le biocenosi e sull'utilizzo limitato di principi attivi ecocompatibili e a persistenza bassa.

Cambiamenti climatici

I mutamenti climatici a cui si sta assistendo sono un nodo di fondamentale importanza nella gestione e nella produttività di tutte le pratiche agricole.

I sempre più frequenti ed intensi fenomeni a carattere piovoso intervallati da periodi di siccità e di caldo o di freddo pungente, non usuali per il clima mediterraneo a cui l'Italia era abituata, hanno inciso profondamente sui dati puramente economici, ma soprattutto sulle modalità di gestione dei campi stessi, traducendosi in perdite considerevoli nella produzione.

Infatti, i dati dell'ultimo anno hanno rilevato un calo di circa il 50% nella produzione limoncola della Costa d'Amalfi, con ricadute economiche considerevoli.

Problematiche fitosanitarie

Le principali avversità degli agrumi, e di conseguenza del limone, sono sia di origine patogena (virus, batteri e funghi) sia fitofaga (diaspini, coccidi, pseudococcidi, afidi, acari, aleirodi, lepidotteri) (Regione Campania).

Virosi: Citrus Tristeza Virus (CTV)

Il *Citrus Tristeza Virus* è un virus originario delle zone tropicali e subtropicali dell'Asia, diffusosi nel resto del mondo attraverso materiale di propagazione infetto. La Tristeza è la più



Figura 7 CTV al microscopio

grave malattia da virus che colpisce diverse specie di agrumi in tutto il mondo, soprattutto se innestate su arancio amaro (Figura 7).

Negli agrumeti della Campania non sono state segnalate zone infestate, ma lo stesso Ente Regione ha predisposto le azioni di lotta preventiva obbligatorie, vista la gravità dei danni possibilmente riportabili da infestazioni da tali virus.

La Tristeza si manifesta con tre quadri sintomatici rilevanti (Figura 8):

- Morte fulminante della pianta;
- Butteratura del legno;
- Giallume dei semenzali.



Figura 8 Attacco del CTV su piante di limone

Altre forme di manifestazione della presenza dell'infestante virulento sono (Figura 9):

- Necrosi al punto d'innesto;
- Frutti di pezzatura diversa;
- Nanismo;
- Butteratura inversa su arancio amaro.

La trasmissione della malattia avviene a mezzo dell'innesto, cioè attraverso materiale di propagazione infetto e/o di afidi vettori. L'afide maggiormente



Figura 9 Attacco del CTV su pianta di limone

efficiente nel trasmettere il virus è l'afide bruno (*Toxoptera citricida*) fortunatamente non ancora presente nel bacino del Mediterraneo.

Meno efficienti, ma presenti nei nostri agrumeti, sono altre specie di afidi fra cui il più diffuso è l'afide del cotone (*Aphis gossypii*).

La lotta al CTV prevede il controllo della movimentazione di materiale vegetale, piante e marze, proveniente dall'estero, mediante l'attuazione sistemi di quarantena, al fine di evitare la propagazione del virus.

Di fondamentale importanza nella lotta alla *Tristeza* è il monitoraggio delle zone agrumicole mediante ispezioni visive e analisi di controllo della presenza del patogeno.

Nel caso in cui si sia riscontrata la presenza del virus a livelli bassi in un'area, le disposizioni prevedono l'individuazione e la successiva distruzione delle piante infette e l'impianto e il reinnesto di materiale in cui sia certificata l'assenza del CTV.

Batteri: Piticchia batterica

La *Pseudomonas syringae* pv. *Syringae* origina una batteriosi, che si manifesta alla fine dell'inverno su rametti giovani e sui frutti. In Campania, tale batterio si riscontra frequentemente in Costiera Amalfitana e nelle isole di Ischia e di Procida.

I rami presentano delle tacche necrotiche brune e depresse, dalle quali può fuoriuscire una sostanza gommosa. Le foglie colpite avvizziscono e seccano, rimanendo attaccate ai rami in caso di decorso



Figura 10 Limone colpito da *Piticchia Batterica*

rapido della batteriosi, cadendo, invece, se l'infestazione avanza più lentamente.

Tale batterio compromette i frutti solo esteticamente, in quanto l'attacco si ferma all'albedo, con comparsa di tacche bruno-scuri, dette piticchie (Figura 10).

La Piticchia batterica può colpire anche le gemme, con conseguente filloptosi precoce. Nelle zone dove il batterio è presente in forma endemica si interviene con prodotti rameici in via preventiva.

Crittogame

Gommosi del colletto e Marciume radicale

Funghi appartenenti al genere *Phytophthora* sono responsabili di malattie a danno degli agrumi ed, in particolare, del limone come il marciume radicale e la gommosi del colletto, particolarmente gravi in presenza di portinnesti suscettibili e pratiche di irrigazione non adeguate.

Le malattie da *Phytophthora* si manifestano sulla chioma con:

- Deperimento progressivo;
- Decolorazione delle foglie;
- Disseccamento dei rametti.

Inoltre, la pianta mostra una stentata ripresa vegetativa, una fioritura debole e una fruttificazione ridotta e di scarsa qualità.

In particolare, la gommosi del colletto, causata da *P. citrophthora*, si manifesta come un cancro corticale, che si osserva alla base del tronco ed appare come una macchia di umido sulla corteccia da cui si ha successiva fuoriuscita di una sostanza gommosa. Nel caso in cui tale lesione colpisce l'intera circonferenza del tronco, si ha morte della pianta (Figura 11). È possibile osservare la gommosi del colletto all'inizio dell'estate, dal momento che la gomma prodotta, essendo idrosolubile, viene dilavata dall'acqua piovana nei mesi invernali.

Associato alle malattie da *Phytophthora* è il marciume radicale, più comune della gommosi ma di più difficile diagnosi. Provocato da *P. nicotianae*, il marciume viene a essere contratto quando il fungo riesce ad infettare le radici più importanti della pianta, causando



Figura 11 Gommosi del colletto



Figura 12 Occhio di Rana

dei rigonfiamenti della corteccia, nei quali viene ad essere accumulata una sostanza gommosa. A seguito del rigonfiamento, si ha la spaccatura della corteccia e comparsa di tipiche lesioni, dette ad “occhio di rana” (Figura 12). Nelle piante più giovani, l'attacco fungino comporta la distruzione del capillizio e il conseguente rapido deperimento della stessa pianta.

Le infezioni fungine da *Phytophthora* sono causate da unità mobili, capaci di nuotare nell'acqua e di poter, così, giungere a contatto con l'ospite. La zona di attacco prevalente sono la parte finale delle radichette per il marciume e la presenza di lesioni al colletto per le gommosi. Mezzi di infestazione possono essere l'irrigazione da infiltrazione laterale da solchi e il trasporto di terreno infetto mediante gli attrezzi di lavorazione. I metodi di difesa consistono nell'uso preventivo di materiale sano e di portinnesti resistenti, come l'arancio amaro, l'arancio trifogliato e i suoi ibridi.

In particolare, la prevenzione della gommosi del colletto prevede il posizionamento dell'innesto ad una altezza di 60-70 cm dal colletto e sistemi di irrigazione che ne evitino la bagnatura. Per quanto riguarda il marciume radicale, è necessario evitare il ristagno idrico ed effettuare turni di irrigazione lunghi.

È importante scalzare il colletto delle piante che mostrano sulla chioma i sintomi delle malattie da *Phytophthora* e pianificare interventi energici di potatura in primavera.

Mal secco degli agrumi

Il mal secco è una patologia di origine fungina, causata dal *Phoma tracheiphila*, diffusa nell'area mediterranea. Gli agrumi maggiormente colpiti sono il limone, il cedro e il bergamotto.

I primi sintomi si manifestano sulle foglie apicali, che mostrano decolorazioni ed ingiallimenti soprattutto in corrispondenza delle nervature (Figura 13-A). Con il tempo si ha caduta delle foglie e disseccamento dei rametti.



Figura 13 A) Attacco del Mal secco sulle foglie – B) Attacco del Mal secco sul legno

Nel caso di infezioni della parte epigea, il decorso della malattia è lento e si ha l'emissione di numerosi polloni. Se invece l'infezione prende avvio dalle radici, si ha la morte della pianta in breve tempo. Questo diverso sviluppo del fungo è dovuto al fatto che all'interno del legno la sua propagazione è lenta e, quindi, difficilmente può raggiungere tutti i rami rapidamente. Invece, dalle radici si diffonde con grande rapidità, raggiungendo in pochi mesi tutto l'apparato radicale, causando la morte della pianta. Le piante colpite da mal secco, quindi, presentano improvvise perdite di fogliame o, anche, di interi rami con foglie affette da una forte clorosi, nonostante il resto della chioma si presenti sano. In breve tempo, intere ramificazioni tendono a disseccare completamente, a partire dall'apice. Il legno all'interno presenta zonature arancioni o scure (salmone), dove il fungo è penetrato nella polpa del legno (Figura 13-B).

Quando la pianta mostra i sintomi del mal secco, è necessario intervenire tempestivamente recidendo i rami colpiti, mediante rimozione dell'intera la zona interessata prestando attenzione

che sia visibile legno privo di maculatura. Dopo il taglio è necessario sterilizzare gli attrezzi utilizzati, al fine di evitare la diffusione del fungo. Il legno di risulta va immediatamente allontanato dalla zona di coltivazione e distrutto. Le piante che presentino infezione a partire dalle radici devono essere estirpate rapidamente e distrutte mediante bruciatura.

Fumaggine

La fumaggine è una malattia degli agrumi provocata da funghi delle specie *Capnodium*, *Limacinia* e *Pleosphaeria*. Questi funghi non attaccano direttamente la pianta, ma nutrendosi della melata (sostanza prodotta da insetti infestanti, quali afidi e cocciniglie) ricoprono le foglie con strutture scure e fuligginose, composte da miceli intrecciati tra loro (Figura 14). Tali strutture, quando compatte e numerose, estendendosi sulla superficie fogliare non permettono alla pianta di assorbire la luce. Attacchi di fumaggine prolungati portano ad un progressivo indebolimento della pianta, fino ad arrivare, in casi di estremo sviluppo della malattia fungina, alla morte della stessa. I filamenti fuligginosi presentano una colorazione bruno-nerastra, che conferisce alla pianta colpita uno sgradevole aspetto estetico.

La formazione della fumaggine è favorita dalla scarsa areazione e da una persistente ed elevata umidità. I luoghi ideali per il suo sviluppo sono le serre, dove le piante di agrumi vengono coltivate oppure riparate durante i mesi

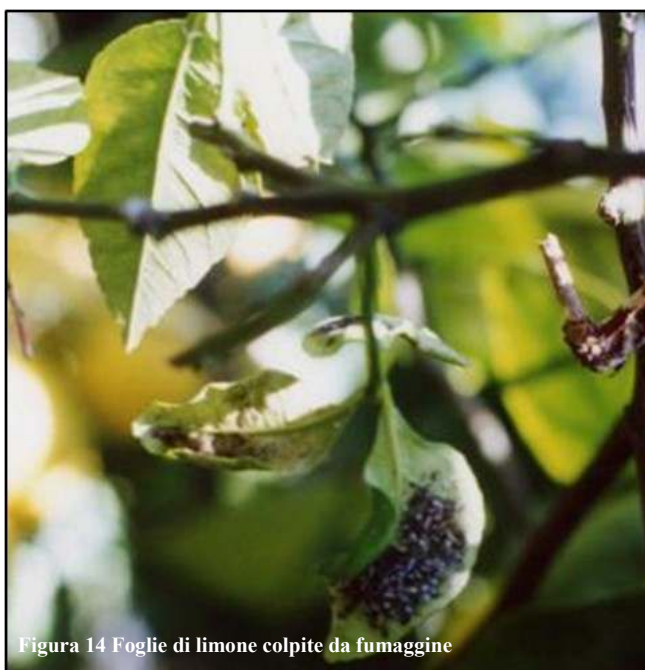


Figura 14 Foglie di limone colpite da fumaggine

invernali, ed i microambienti creati con la copertura invernale, praticata per proteggere le delicate piante di limone.

La presenza di afidi e cocciniglie è un altro elemento di fondamentale importanza per lo sviluppo e la proliferazione della fumaggine, poiché essi producono le sostanze di cui gli stessi funghi si nutrono. La lotta alla fumaggine avviene, quindi, in contemporanea a quella dei fitofagi menzionati. Azioni preventive prevedono la rimozione della melata e l'utilizzo di prodotti specifici a base di rame, da utilizzare solo nei casi in cui l'infezione fungina sia estremamente estesa.

Fitofagi

L'agrumeto è caratterizzato da una componente di oltre 200 specie infestanti, il cui sviluppo dipende dalle pratiche agronomiche. La componente animale include alcune decine di specie fitofaghe, più o meno nocive, che sono soggette all'azione limitante di numerosi parassiti e

predatori. L'agrumeto è l'agrosistema nel quale sono state messe a punto e realizzate le prime concrete applicazioni di lotta biologica classica, basate sull'impiego gestito di limitatori naturali di organismi nocivi. Tale situazione non è casuale ma, scaturisce dalle peculiari caratteristiche dell'agrosistema stesso, la cui componente animale della biocenosi include poche decine di specie fitofaghe, soggette all'azione parassitaria di varie entità entomofaghe sia indigene che esotiche, particolarmente efficaci nei confronti delle specie sedentarie, quali cocciniglie e aleirodi, che annoverano molte entità nocive alla coltura. I raggruppamenti zoologici, cui afferiscono i parassiti animali degli agrumi, sono quelli dei Nematodi, dei Molluschi Gasteropodi, degli Artropodi (Acari e Insetti) nonché di Mammiferi Roditori, Soricomorfi e Lagomorfi (Longo S., Suma P., 2013).

Nematodi

Tra i nematodi, che infestano le coltivazioni di agrumi in vivaio, solo il *Tylenchulus semipenetrans*, detto nematode degli agrumi, arreca danni anche alle coltivazioni in campo.

Il nematode degli agrumi è una specie semi-endoparassita diffusa negli agrumeti mediterranei, dove risulta estremamente dannosa in terreni limosi e ad alta salinità. Le infestazioni dipendono dal portinnesto utilizzato e mostrano segni progressivi di indebolimento della pianta e di diminuzione della produzione come sintomi.

La lotta biologica al nematode degli agrumi prevede l'utilizzo di un fungo antagonista, il *Paecilomyces lilacinus*. Inoltre, portinnesti come l'arancio trifogliato e i suoi ibridi sono risultati essere resistenti alle infestazioni dal nematode.

Acari

Le specie più diffuse e nocive di acari, in Campania, sono i ragnetti rossi e l'acaro rugginoso e l'acaro dell'argentatura.

- **Ragnetto rosso tessitore:** il *Tetranychus urticae* si presenta con il tipico colore rosso aranciato e svolge più di 10 generazioni annue. Le dimensioni della femmina adulta variano da 0,5 a 0,6 mm. Questo acaro è polifago, ma predilige il limone. I sintomi sul frutto si presentano come bollosità giallastre, filloptosi e rugosità, con necrosi nella parte umbonale (Figura 15). Il ragnetto rosso si sviluppa maggiormente in condizioni climatiche calde e umide, in presenza di sesti d'innesto stretti, scarso arieggiamento delle piante e da concimazioni azotate squilibrate. La presenza di questo acaro viene controllata da nemici naturali, quali gli acari fitoseidi e stigmatidi, *Stethorus punctillum* e *Orius* spp.. In caso di infestazione massiva è possibile impiegare gli acaricidi autorizzati.



Figura 15 Danni ragnetto rosso tessitore

- **Panonico o raghetto rosso degli agrumi:** il *Panonychus citri* è un acaro di colore rosso



Figura 16 Panonico su foglia di limone

cupo, dalle dimensioni inferiori a quelle del *T. urticae* (da 0,38 a 0,44 mm). I periodi di maggiore sviluppo sono quello primaverile, da marzo a maggio, e quello autunnale, da settembre a novembre. I sintomi si rivelano sulle foglie, dove si creano zone di decolorazione tendenti al bronzo e insorgono puntini gialli diffusi (Figura 16).

In caso in cui l'infestazione sia grave, si manifesta filloptosi e i frutti attaccati assumono colorazione argentea e possono cadere precocemente. Nei periodi di massima diffusione di questo acaro è possibile intervenire con azoto-solforganici o con oli minerali.

- **Acaro rugginoso e Acaro dell'argentatura:** ormai scomparsi in Campania, la lotta a questi parassiti è di tipo preventivo. I sintomi della presenza di questi acari sono le caratteristiche colorazioni che assumono i frutti: ruggine per l'acaro rugginoso (*Aculops pelekassi*) (Figura 17-A) e argento per l'acaro dell'argentatura (*Polyphagotarsonus muslatus*) (Figura 17-B). Il controllo naturale di questi parassiti è a carico di diversi acari predatori. In caso di forte infestazione, è possibile ricorrere ad acaricidi autorizzati.



Cocciniglie

Le cocciniglie segnalate sugli agrumi sono circa 180 specie, una ventina delle quali presenti in Italia. Le specie più nocive rientrano tra i diaspidi (*Aonidiellana urantii*, *Aspidiotus nerii*), i coccidi (*Saissetia oleae*, *Ceroplastes sinensis*) e gli pseudococcidi (*Planococcus citri*).

- **Cocciniglia rossa forte:** la *Aonidiella aurantii* è una specie di origine asiatica, insediata nelle regioni agrumicole dell'Italia meridionale. Come tutte le diaspidi, la femmina e le neanidi di seconda età sono racchiuse in un involucro protettivo, detto follicolo, composto da cera, seta, escrementi ed esuvie degli stadi pre-immaginali precedenti. Il follicolo femminile della *A. aurantii*, dal diametro di circa 2 mm, è di forma tonda e di colore nocciola-rossastro, con esuvie centrali più scure. Il maschio, invece, presenta follicolo di circa 1 mm di lunghezza di forma ovale e colore marroncino chiaro. La cocciniglia rossa forte infesta rami, foglie e frutti dei limoni. I sintomi manifestati sono ingiallimento fogliare, filloptosi e deperimento generale della pianta (Figura 18). I frutti cadono precocemente e sono

fortemente deprezzati. I rami maggiormente colpiti presentano profonde fessurazioni della



Figura 18 Effetti della Cocciniglia rossa forte

corteccia, dovute alle punture dell'insetto. La *A. aurantii* sverna in vari stati di sviluppo e in primavera si riproduce sia mediante ovideposizione che mediante partenogenesi. Le generazioni sono generalmente 2 o 3 annue, fino a 4 quando le condizioni ambientali (clima caldo ed asciutto) sono

favorevoli. La presenza della cocciniglia rossa forte è controllata da nemici naturali come i Coccinellidi, gli Imenotteri Calcidoidei e da alcuni funghi. Le infestazioni più gravi possono essere controllate mediante l'utilizzo di oli bianchi attivati, eventualmente, con fosfororganici, piretroidi o con chitino-inibitori specifici, secondo le disposizioni per la lotta guidata ed integrata.

- **Cocciniglia bianca del limone:** la *Aspidiotus nerii* è una specie diffusa in tutto il bacino mediterraneo. Prolifera in molte colture, prediligendo l'agrumicoltura ed, in particolare, il limone. Il follicolo femminile, lungo circa 2 mm, si presenta di colore nocciola chiaro, tondeggiante e con esuvie centrali gialle. Il follicolo maschile, invece, è presente solo nelle neanidi di seconda età, è più piccolo di quello femminile, di colore bianco candido e di forma tendente all'ovale. La cocciniglia bianca del limone svolge 3-4 generazioni all'anno e sverna per lo più come femmina non fecondata.



Figura 19 Effetti della *A. nerii*

La prima generazione si svolge in maggio, la seconda in luglio e la terza in novembre. I danni alle piante si riscontrano sulle foglie, le cui pagine inferiori vengono infestate, con ingiallimento, disseccamento e filloptosi. I danni più importanti si manifestano sui frutti, dove si formano incrostazioni. I frutti più colpiti hanno ridotta capacità di sviluppo, perdendo valore commerciale, e presentano macchie verdi in corrispondenza dei punti di insediamento della cocciniglia, che rimangono bene visibili (Figura 19). La difesa per la *A. nerii* passa per l'utilizzo di oli bianchi alla comparsa delle neanidi. Inoltre, tale cocciniglia viene contrastata da antagonisti naturali quali Coleotteri Coccinellidi e Imenotteri Calcidoidei Afelinidi.

- **Cocciniglia mezzo grano di pepe:** la *Sassietia oleae* è un coccide diffuso nelle aree dal clima mite e temperato. La femmina adulta è di forma ovale (lunga di circa 5 mm), con un corpo



Figura 20 Femmina di *Sassietia oleae*

fortemente convesso che porta le caratteristiche carene a forma di H. Di colore marrone, la femmina scurisce in fase di ovideposizione (Figura 20). Il maschio è dotato di ali e compare raramente. Vi sono da 1 a 2 generazioni all'anno. I danni da attacco da cocciniglia mezzo grano di pepe sono visibili soprattutto sui rami e sulle foglie, in

corrispondenza delle zone in cui la cocciniglia si è nutrita. Sulle foglie, queste cocciniglie si insediano nella parte inferiore, lungo la nervatura mediana. Poiché la *S. oleae* sottrae linfa ai germogli, si assiste ad uno scarso sviluppo dei germogli ed a una minore produzione di frutti, che spesso cadono prematuramente. La pianta, complessivamente, va incontro ad un progressivo deperimento con disseccamenti diffusi e con ripercussioni anche nelle produzioni degli anni successivi. La Cocciniglia mezzo grano di pepe produce una grande quantità di melata, che, oltre ad attirare formiche, favorisce la crescita di fumaggini. La proliferazione e la diffusione della cocciniglia mezzo grano di pepe sono favorite da clima invernale mite, estati umide e temperature non troppo elevate, e da un eccesso di concimazioni azotate. La presenza della *S. oleae* viene controllata dai comuni predatori e parassitoidi delle cocciniglie. Inoltre, la lotta a questo coccide prevede potature di sfoltimento, adeguate concimazioni equilibrate, senza eccesso di azoto, e l'utilizzo di sostanze chimiche nei dettami della lotta guidata ed integrata.

- **Cocciniglia elmetto degli agrumi:** il *Ceroplastes sinensis* è un fitofago degli agrumi conosciuto fin dal '800 in tutta l'area meridionale italiana. La femmina adulta, lunga dai 6 ai 7 mm, ha il corpo protetto da sette piastre cerose, di cui quella centrale di colore bianco rosato (Figura 21). Il maschio raggiunge una lunghezza di circa 1,5 mm ed è di colore bruno-rossiccio, dotato di ali. Il maschio sfarfalla da follicoli bianchi ellittici, lunghi circa 2 mm, e dotati di raggi cerosi. I follicoli sono fissati lungo la nervatura principale delle foglie nella pagina superiore. La cocciniglia elmetto degli agrumi svolge una sola generazione all'anno. I danni si manifestano sulle foglie e sui rametti e sono determinati



Figura 21 Cocciniglia elmetto degli agrumi

dalle punture trofiche e dalla produzione di melata che, inoltre, incentiva lo sviluppo di fumaggini, che a loro volta deprezzano il frutto. Gli antagonisti naturali della cocciniglia elmetto rientrano negli insetti antagonisti comuni a tutte le cocciniglie. La lotta è di tipo chimico, secondo i dettami della lotta integrata e biologica, e prevede l'utilizzo di oli minerali leggeri, fosfororganici, carbammati e piretroidi.

- **Cotonello degli agrumi:** il cotonello degli agrumi o cocciniglia farinosa, *Planococcus citri*, è una specie polifaga diffusa nelle aree temperate, sia in pieno campo che nelle serre. La femmina adulta, lunga da 2,5 a 3 mm, si presenta appiattita e ricoperta di polvere cerosa. Il corpo è contornato da raggi cerosi di uguali dimensioni, ad eccezione dei due caudali più lunghi. Il maschio, lungo fino ad 1 mm e dotato di ali, si presenta di colore bruno-rossiccio. Il cotonello degli agrumi svolge dal 2 a 5 generazioni all'anno. Il *P. citri* si localizza in



Figura 22 Danni da cotonello degli agrumi

prossimità dei frutti e nelle zone di contatto frutto/frutto e frutto/foglia. La fitta vegetazione, infatti, favorisce la formazione di dense colonie fioccosse che possono presentarsi anche sui fiori. I danni si registrano a carico dei frutti, a causa della sottrazione di linfa e della presenza di melata prodotta dagli infestanti, che porta alla formazione di fumaggini (Figura 22). La perdita di valore della produzione scaturisce dalla presenza di melata, fumaggini e fiocchi di cera sui frutti. Inoltre, infestazioni massive di *P. citri* portano alla cascola prematura dei frutti. Il

controllo del cotonello degli agrumi è a carico di insetti antagonisti e di pratiche agronomiche e chimiche. Gli antagonisti rientrano tra i comuni nemici naturali delle cocciniglie. Pratiche colturali che favoriscono l'arieggiamento della chioma e l'eliminazione dei frutti intaccati favoriscono la gestione delle infestazioni di *P. citri*. Per la lotta chimica, seguendo le indicazioni per la lotta integrata, è possibile utilizzare oli bianchi oppure oli bianchi attivati con fosfororganici e piretroidi.

Tignola della zagara

La tignola degli agrumi, *Prays citri*, è una farfalla che da adulto si presenta di colore grigio, con ali anteriore variegata di nero e quelle posteriori frangiate e con apertura alare di circa 12 mm. La larva è di colore bruno-verdastra, con tonalità di colore variabili. La *P. citris* volge più generazioni annue, a seconda dell'andamento climatico, arrivando a raggiungere le 10 generazioni. I danni da

tignola della zagara sono a carico dei boccioli fiorali e dei fiori già aperti, poiché le larve penetrano all'interno degli stessi riunendoli con fili sericei e rodendoli fino all'ovario.

In presenza di gravi attacchi, è possibile incorrere a caduta dei boccioli. Le larve attaccano anche germogli e frutticini, erodendoli, svuotandoli e portandone alla cascola precoce (Figura 23). È possibile che la Tignola della zagara attacchi anche i frutti maturi, compromettendone la conservazione.



Figura 23 *Prays citri* adulto

Il controllo della *P. citri*, in natura, è attuato da

Imenotteri Calcidoidei. L'intervento umano, invece, oltre che nell'esecuzione delle buone normali pratiche agronomiche, deve essere guidato e soggetto a monitoraggio delle popolazioni, mediante trappole sessuali e campionamenti visivi.

Mosca della frutta

La mosca della frutta, *Ceratitis capitata*, è un insetto estremamente polifago e molto diffuso nell'area mediterranea. La *C. capitata* è un moscerino dalle dimensioni comprese tra i 4 e i 6 mm, dal torace grigio-giallastro e dalle ali membranose con caratteristiche macchie color giallo ocraceo. L'addome della mosca della frutta è tondeggiante e termina a punta, di colore giallo-arancio, con barrature trasversali grigio-argenteo. Tale insetto compie dalle 6 alle 7 generazioni annue, nelle zone dell'Italia centro-meridionale, mentre in Italia settentrionale si hanno 3-4 generazioni all'anno, a causa delle condizioni ambientali meno favorevoli.



I danni provocati dalla mosca della frutta sono riscontrabili sui frutti e sono causati dalle punture di ovideposizione e dalle attività delle larve in sviluppo (Figura 24).

I punti di ovideposizione determinano la comparsa di zone mollicce, soggette a marcescenza. Le larve, invece, sviluppandosi in maniera gregaria dentro ai

frutti, si nutrono della polpa, provocandone il disfacimento e la predisposizione all'attacco da parte di marciumi fungini e, di conseguenza, determinando la completa degenerazione del frutto.

I frutti colpiti dalla mosca della frutta sono soggetti a cascola.

La lotta alla *C. capitata* è di difficile attuazione, essendoci molte generazioni nell'arco dell'anno. Quindi, la stessa lotta non può prescindere da azioni di monitoraggio effettuate mediante trappole cromotropiche e feromoniche e bottiglie trappola con soluzioni acquose di fosfato ammonico e sostanze alimentari. È possibile pianificare anche una lotta biotecnologica, mediante l'utilizzo di

colonie di mosca della frutta, sterilizzate in laboratorio mediante radiazioni o sostanze chemiosterilizzanti.

Aleirodi

Tra le cinque specie di aleirodi presenti solo l'aleirode fioccoso, *Aleurothrixus floccosus*, rappresenta una minaccia per gli agrumeti campani.

L'aleirode fioccoso è una specie polifaga di probabile origine sudamericana. Gli adulti hanno dimensioni comprese tra 1 e 1,5 mm, sono di colore giallastro paglierino e risultano ricoperti da cera granulare bianca. Le uova vengono deposte in ovature circolari e le neanidi sono di colore giallo paglierino con abbondante secrezione cerosa di colore bianco, che spesso ricopre la pagina inferiore delle foglie infestate, formando fitte incrostazioni



Figura 25 Danni da *A. floccosus*

con melata e fumaggini che non permettono gli scambi gassosi con conseguenti ricadute sulla fisiologia della pianta (Figura 25).

Lo sviluppo delle popolazioni di *A. floccosus* è continuo durante il corso dell'anno, registrando una lieve diminuzione durante i mesi più freddi e umidi.

Tra i limitatori naturali, il più diffuso è il calcidoideo afelinide *Calesnoaki*, presente ormai in tutte le aree agrumicole.

In mancanza di entomofagi, su piante giovani possono essere effettuati trattamenti con oli minerali. Inoltre, è utile una preliminare irrorazione delle piante con acqua e saponi per eliminare lo strato di melata e cera che ricopre e protegge le neanidi.

Fillominatrice degli agrumi

La fillominatrice degli agrumi o minatrice serpentina degli agrumi, *Phyllocnistis citrella*, è un lepidottero diffusosi in Italia a partire dal 1994 (Caleca, 2000). L'adulto è una farfallina di piccole dimensioni, dall'apertura alare massima di 4 mm (Figura 26), e dalle ali anteriori bianco-argentee, frangiate e con sottili bande scure e una macchiolina nera alla sommità. La larva, invece, si presenta di colore giallo-verdognolo e di dimensioni



Figura 26 Fillominatrice degli agrumi adulta

dimensioni, nello stadio di maturità, non

superiori ai 3 mm. La fillominatrice può compiere da 5 a 13 generazioni annue, con un rallentamento dello sviluppo degli individui nei periodi freddi.

La *P. citrella* si localizza sulle foglie giovani, sui germogli e anche sui frutti, provocando disseccamenti diffusi, necrosi e accartocciamenti con conseguente caduta delle foglie colpite.

L'attacco alle foglie avviene ad opera delle larve, che scavano mine sottoepidermiche curvilinee e ripiegate su se stesse. Queste gallerie sono caratterizzate da un colore argenteo, dovuto alla penetrazione dell'aria, e da una linea centrale scura, a causa degli escrementi delle larve. Le foglie danneggiate appaiono deformate, con ripiegature del bordo verso la pagina inferiore (Figura 27).

I frutti colpiti presentano la superficie della buccia incisa a causa dell'attività della larva.



Gli antagonisti naturali sono i predatori, Crisope e i Tripidi, e i parassitoidi *Senielacher petiolatus* e *Citrostichus phyllocnistoides*, imenotteri eulofidi. La lotta alla fillominatrice è di tipo agronomico, limitando l'intervento critico solo alle infestazioni più gravi. Le azioni agronomiche prevedono la limitazione degli stress idrici, la riduzione degli apporti azotati in estate, l'anticipo della potatura (annuale e di limitata entità) e l'eliminazione dell'eccessiva presenza di succhioni, che con la loro germogliazione favoriscono lo sviluppo continuo dell'insetto.

CAPITOLO 3

Lotta biologica e benessere della pianta

Lotta biologica

Le piante vivono abitualmente in intima associazione con i microrganismi, con i quali possono instaurare interazioni benefiche (simbiotiche e non) o nocive (patogeniche). Le condizioni ambientali in cui hanno luogo tali interazioni sono tuttavia notevolmente differenti se si considera l'ampia variabilità esistente sulla superficie aerea delle piante (la fillosfera) e la maggiore stabilità della zona circostante le radici (la rizosfera). La prima è esposta a rapidi e frequenti cambiamenti di temperatura, umidità, intensità luminosa, ecc., con conseguenti modifiche della concentrazione dei nutrienti disponibili e dell'osmolarità. Sebbene questo microambiente possa apparire ostile allo sviluppo dei microrganismi, la popolazione microbica della fillosfera include diversi generi di batteri, funghi filamentosi, lieviti, alghe e, meno frequentemente, protozoi e nematodi. La rizosfera fornisce, invece, maggior protezione della fillosfera dalla disidratazione, dagli sbalzi di temperatura e di intensità luminosa, nonché maggiore abbondanza di fonti nutritive. Per questo motivo numerose specie di batteri, funghi, protozoi e nematodi colonizzano la rizosfera, rimanendo liberi o adesi alla superficie delle radici (Bolton et al., 1992; Bowen e Rovira, 1999). La ricerca di metodi alternativi alla lotta chimica ai patogeni delle piante ha avuto negli ultimi anni un notevole impulso. La maggiore sensibilità dell'opinione pubblica alle problematiche relative all'inquinamento ambientale, lo sviluppo di popolazioni di organismi patogeni resistenti ai pesticidi chimici, la revoca dell'autorizzazione all'impiego di alcuni principi attivi chimici e, non ultimo, la sempre più crescente attenzione da parte di produttori e consumatori alla salubrità dei prodotti alimentari, hanno stimolato la ricerca su strategie alternative da utilizzare per un'agricoltura sostenibile.

Si definisce *lotta biologica* o *biocontrollo* "l'utilizzo di organismi naturali o modificati, di geni o prodotti genici, atti a ridurre gli effetti degli organismi indesiderati e favorire quelli utili all'uomo, alle coltivazioni, agli animali e ai microrganismi simbiotici", includendo in questa definizione anche le pratiche di lotta agronomica e l'applicazione delle recenti tecniche di biologia molecolare per lo sviluppo di nuove biotecnologie (Accademia Nazionale della Scienza degli Stati Uniti -NAS, 1987).

L'obiettivo principale del controllo biologico è la riduzione, tramite uno o più organismi, della densità di inoculo o delle capacità patogeniche di un parassita, nel suo stato attivo o dormiente, riduzione che si verifica naturalmente o mediante la manipolazione dei fattori ambientali, della pianta ospite, di un antagonista, oppure mediante l'introduzione massiva di uno o più antagonisti. Il controllo biologico si realizza essenzialmente attraverso tre strategie principali:

1. contenimento della popolazione patogena mediante interventi sul suolo o sull'ambiente;
2. sfruttamento della resistenza della pianta ospite;
3. esclusione dell'infezione con l'uso di microrganismi antagonisti.

Nonostante gli indubbi vantaggi che potrebbero derivare da un suo più largo impiego, la lotta biologica è ancora poco diffusa, anche a causa dell'incostanza dei risultati. Tale incostanza può essere attribuita all' influenza dell'ambiente in cui gli agenti di biocontrollo (Biological Control Agent, BCA) si trovano ad operare e che, di volta in volta, può risultare favorevole al patogeno o al suo antagonista, ma anche all'efficacia, a volte modesta, di alcuni BCA (Whipps J. M., Lumsden R. D. 2001).

Ne consegue che, nel confronto con i composti organici di sintesi, i biopesticidi appaiono spesso perdenti. Infatti, a fronte di alcuni innegabili vantaggi dei composti di sintesi (effetto rapido, efficacia anche in fase post-infezionale, ampio spettro d'azione e maggiore facilità di preparazione ed applicazione), i biopesticidi mostrano alcuni limiti, come inferiore efficacia in alcune condizioni ambientali, lentezza nel produrre gli effetti desiderati, uso esclusivamente preventivo, minore conservabilità (shelf-life), nonché conservazione e applicazione più difficoltose. In termini economici, tali aspetti si traducono in uno svantaggio diretto per l'utilizzatore, che è costretto ad acquistare più prodotti per combattere diversi agenti fitopatogeni altrimenti controllabili con un singolo prodotto chimico, e in uno svantaggio indiretto dovuto alla necessità di effettuare un numero maggiore di trattamenti e di attrezzarsi per una conservazione e un'applicazione corretta dei biofitofarmaci.

Alla luce di queste considerazioni, molte ricerche mirano attualmente a migliorare le prestazioni dei BCA da impiegare come biopesticidi cercando di individuare soluzioni innovative che, partendo da una conoscenza più approfondita dei meccanismi fisiologici e molecolari dell'interazione dei diversi organismi coinvolti (pianta, agente patogeno/parassita e BCA), aumentino l'efficacia e amplino lo spettro d'azione dei BCA.

L'interesse nell'utilizzo di microrganismi antagonisti per il controllo di patogeni vegetali (controllo biologico o biocontrollo) è aumentato negli ultimi anni in seguito al crescente allarme dei consumatori per la presenza di residui chimici nei cibi, ad un maggior interesse per le problematiche di salvaguardia ambientale e allo sviluppo nelle popolazioni dei patogeni della resistenza ai pesticidi impiegati nell'agricoltura convenzionale. Tuttavia, per realizzare un efficace biocontrollo è necessario conoscere e comprendere i meccanismi alla base delle interazioni che avvengono nel suolo ed in particolare nella rizosfera (Figura 28).

Le sperimentazioni sull'attività antagonistica vengono eseguite su diversi campi d'azione: trattamenti al terreno (settore dove si trovano maggiori risultati in quanto è l'habitat dei miceti antagonisti); applicazione su seme; lotta ai patogeni sulla parte epigea (settore più arretrato perché qui non si ricreano condizioni stabili come nel terreno); utilizzo del prodotto vegetale in post-raccolta nelle derrate vegetali.

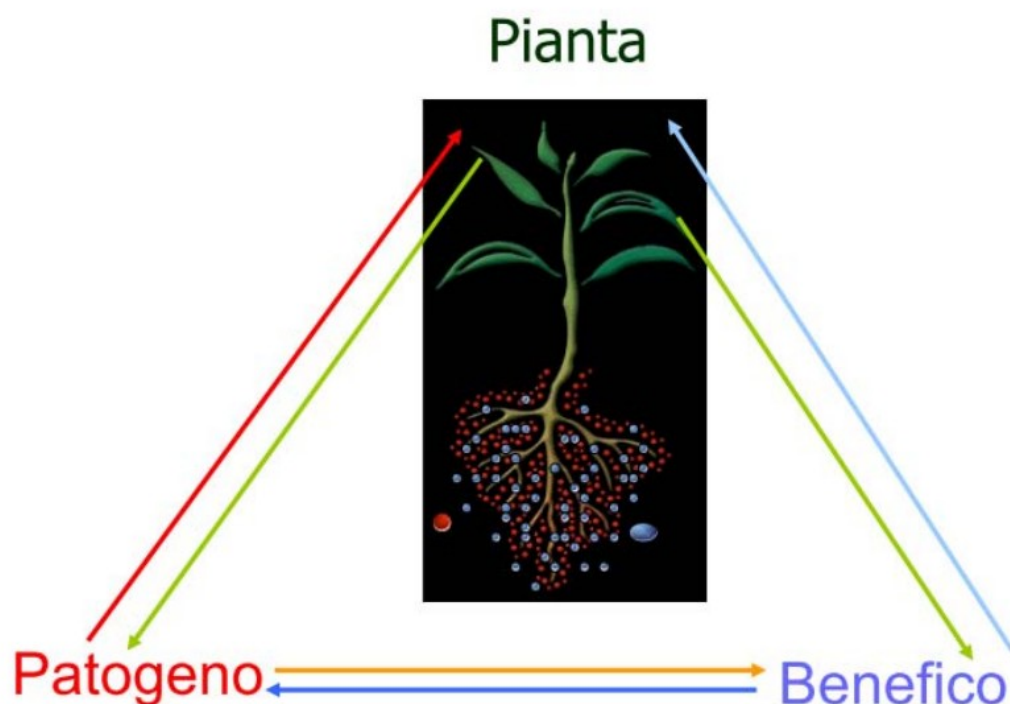


Figura 28 Illustrazione schematica dell'interazioni ecologiche tra pianta, patogeno, agente di biocontrollo.

In generale, il successo del controllo biologico richiede non solo lo studio del potenziale agente antagonista, ma anche la conoscenza delle complesse interazioni ecologiche che si instaurano tra la pianta, l'agente patogeno, la microflora naturale e l'ambiente in genere. L'impiego di funghi antagonisti per contenere malattie causate da funghi fitopatogeni rappresenta uno tra i più diffusi esempi di lotta biologica, che trova applicazione sia contro malattie radicali che contro patogeni della parte aerea delle piante. Tra gli agenti fitopatogeni più dannosi (responsabili nel complesso di circa il 70% delle principali malattie delle colture agrarie) (Deacon J. W., 1997), per i quali esistono interessanti applicazioni di lotta biologica, si annoverano specie appartenenti ai generi *Rhizoctonia*, *Botrytis*, *Phytophthora*, *Pythium*, *Sclerotinia* e *Fusarium*.

Un antagonista è un microrganismo, batterio o fungo, in grado di contrastare un patogeno bersaglio, andando ad interferire con il suo ciclo vitale (Baker e Cook, 1974). Nonostante le modalità attraverso cui i microrganismi antagonisti attaccano gli agenti patogeni non siano sempre del tutto chiare, i meccanismi d'azione ad oggi individuati sono molteplici. Tali meccanismi possono essere distinti in meccanismi diretti ed indiretti. I meccanismi diretti sono quelli che operano nell'ambito dell'interazione antagonista-patogeno e comprendono: il parassitismo, l'antibiosi e la competizione per spazio e nutrienti. Tra i meccanismi indiretti, invece, vengono incluse tutte quelle modificazioni morfologiche e biochimiche nella pianta ospite ad opera dell'agente antagonista e che si traducono in una maggiore resistenza della pianta a stress abiotici e biotici. Nessuno di questi meccanismi esclude l'altro ed è, anzi, più frequente che l'agente biocontrollo espliciti la sua attività antagonistica impiegando diversi metodi di

azione. La capacità di agire in un modo o nell' altro, nel complesso processo del biocontrollo da parte di un isolato antagonistico, può infatti variare al variare del patogeno, dell'ospite e delle condizioni ambientali, in particolare disponibilità di nutrienti, pH e temperatura (Benitez et al., 2004; Vinale et al., 2008).

Il parassitismo è correlato alla capacità di un antagonista di vivere in intima associazione con un altro microrganismo dal quale trae le sostanze nutritive. L'interazione dell'antagonista con il patogeno bersaglio si realizza attraverso il susseguirsi di fasi distinte: localizzazione, riconoscimento, contatto e penetrazione, acquisizione del nutrimento a spese dell'organismo parassitizzato. Nel caso di antagonisti fungini si parla più specificamente di micoparassitismo. In questo processo, durante la fase di contatto e penetrazione, giocano un ruolo chiave sia enzimi litici quali chitinasi, glucanasi e proteasi, capaci di degradare la parete cellulare dell'ospite, sia gli antibiotici prodotti dagli antagonisti (Elad et al, 1982; Woo e Lorito, 2007; DosReisAlmeida et al., 2007). A seconda del danno provocato a carico del proprio ospite, i micoparassiti vengono distinti in necrotrofici e biotrofici. I necrotrofici, stabilito il contatto con l'ospite, ne determinano la morte, invadendo le cellule ed utilizzando le sostanze nutritive liberate dalle ife colpite (Kendrick, 1992). I biotrofici, invece, stabiliscono un contatto persistente ed un'occupazione della cellula ospite che continua a rimanere viva. Un esempio di funghi micoparassiti è rappresentato dalla specie *Trichoderma*, considerata per lo più micoparassita necrotrofica. Anche l'antibiosi riveste un ruolo importante nell'azione che gli antagonisti esplicano nei confronti dei patogeni. Per antibiosi si intende la produzione di sostanze antibiotiche o metaboliti tossici che esplicano un'azione dannosa su un altro microrganismo, determinando l'inibizione di importanti funzioni metaboliche, della crescita o la morte dello stesso (Cook e Baker, 1983; Howell et al., 1983; Simon et al., 1988; Dunlop et al., 1989; Harman, 2000). Tali metaboliti possono essere composti a basso peso molecolare oppure macromolecole, come enzimi extracellulari, e possono essere volatili e non (Fravel, 1988; Weller, 1988). La loro funzione biologica è quella di favorire la colonizzazione di una particolare nicchia ecologica da parte del microrganismo produttore a scapito dei microrganismi competitori. In natura esistono molti microrganismi capaci di controllare, totalmente o parzialmente, la popolazione di un patogeno. Ci sono, infatti, molti habitat nei quali una malattia risulta del tutto assente o appena manifesta a causa dell'impossibilità del patogeno di espletare la sua virulenza o di espletarla in maniera ridotta (in questo caso il suolo è chiamato soppressivo). Questo fenomeno è dovuto sia alle caratteristiche chimico-fisiche del terreno che alla presenza di microrganismi in grado di esercitare un'azione antagonista nei confronti del patogeno. I funghi antagonisti hanno dimostrato di essere capaci di produrre un'ampia varietà di sostanze antibiotiche, direttamente coinvolte nei meccanismi di controllo delle malattie delle piante. Ad esempio, la gliovirina e la gliotossina prodotte da *Trichoderma virens* sono risultate attive contro

Pythium ultimum Trow e *Rhizoctonia solani* Kuhn (Wilhite et al., 1994). Il controllo biologico da parte degli antagonisti può realizzarsi anche attraverso la competizione per spazio e nutrienti. Cook e Baker (1983) hanno definito la competizione come “il tentativo di due o più microrganismi di utilizzare quantità adeguate di un fattore vitale, nella forma e nelle condizioni specifiche in cui il fattore è presente, quando la quantità disponibile non è sufficiente per entrambi”. La competizione tra microrganismi avviene principalmente per fattori nutrizionali (carboidrati, azoto, ferro, fattori di crescita), ma anche per lo spazio (siti di ingresso della pianta) e per l’ossigeno (Faull, 1988). Tale fenomeno è strettamente correlato alla capacità degli antagonisti di adattarsi ed essere attivi in svariate condizioni ambientali (pH, temperatura e umidità), capacità che favorisce la rapida colonizzazione dei siti d’interazione tra antagonista e agente patogeno (rizosfera, filloplano, siti d’infezione) con la conseguente formazione una vera e propria barriera biologica all’invasione da parte dei patogeni (Cook, 1988). Un importante esempio di competizione per i nutrienti è fornito da alcuni antagonisti, in grado di sequestrare il ferro presente nel terreno anche in condizioni estreme, come per esempio a bassi valori di pH, rendendolo indisponibile per gli altri microrganismi.

Come accennato in precedenza, i BCA possono esplicare la loro azione anche inducendo un sostanziale cambiamento nella fisiologia della pianta ospite, che si traduce nell’aumento della capacità di difesa nei confronti dei patogeni e, conseguentemente, nella riduzione dell’incidenza e della gravità delle malattie (Vinale et al., 2008; Van Wees et al., 2008). Infatti, alcuni antagonisti sono in grado di modulare i meccanismi di difesa delle piante, inducendo l’attivazione della risposta ipersensibile (Hypersensible response, HR) e della resistenza sistemica indotta (Induced Systemic Resistance, ISR) (Lanzuise, 2005). Alcune piante, a seguito della continua minaccia da parte dei microrganismi patogeni e dei continui trattamenti con pesticidi chimici, hanno sviluppato costitutivamente un sistema di difesa in grado di prevenire l’invasione e/o l’attacco dei loro tessuti (Harman et al., 2004). L’attivazione della HR nella zona di infezione, caratterizzata dalla formazione di aree necrotiche e dalla conseguente riduzione della crescita e dello sviluppo dei patogeni biotrofi, rappresenta una delle più importanti risposte della pianta all’invasione microbica. Una volta attivata la risposta localizzata nei siti d’infezione, generalmente, si sviluppa quella che viene definita la resistenza sistemica acquisita (Systemic Acquired Resistance, SAR) nei confronti di successive infezioni da parte dello stesso o di altri patogeni (Kothari e Patel, 2004). Alla base di questo processo, sembrano esserci molecole segnale, come l’acido salicilico o l’acido jasmonico, le quali, insieme con etilene e ossido di azoto, attivano una cascata di eventi biochimici che portano alla produzione di numerosi metaboliti e proteine, tra cui fenoli, specie reattive dell’ossigeno (ROS), fitoalessine, sesquiterpeni e proteine legate alla patogenesi (Pathogenesis Related Protein, PR Protein), con svariate funzioni biologiche (Harman et al., 2004). Una di queste

è la capacità di inibire il patogeno. E' stato dimostrato che la resistenza sistemica nelle piante può essere indotta anche in seguito alla colonizzazione delle radici da parte di microrganismi non fitopatogeni come i BCA (Walters e Daniell, 2007). In questo caso si parla di ISR e alla base di tale fenomeno vi è il rilascio da parte degli antagonisti di molecole segnale (elicitori) in grado di generare nella pianta una cascata di eventi assimilabili a quelli descritti in precedenza. Per esempio, diversi studi attestano la capacità di *Trichoderma* spp. di produrre, nel corso dell'interazione con la pianta, differenti classi di metaboliti che agiscono da elicitori, ovvero da induttori di resistenza. Tali molecole comprendono proteine con attività enzimatica (es. xylanasi), prodotti genici di avirulenza, e composti a basso peso molecolare rilasciati dalle pareti cellulari del fungo o della pianta in seguito all'azione degli enzimi di *Trichoderma* spp. (Vinale et al., 2008). L'interazione dei microrganismi antagonisti con la pianta non si limita solo all'attivazione di risposte di difesa, ma in alcuni casi determina anche una promozione della crescita della pianta. Ciò avviene attraverso l'aumento della biodisponibilità di nutrienti (es. azoto, fosforo, micronutrienti) e la produzione di sostanze di crescita (es. sintesi di fitormoni e sostanze fitormone-simili) (Berg, 2009). Tra gli antagonisti fungini più interessanti e maggiormente studiati vi sono diverse specie del genere *Trichoderma*. Tale genere racchiude un'ampia varietà di biotipi che, oltre ad esercitare un antagonismo diretto nei confronti degli agenti fitopatogeni, sono in grado di stabilire rapporti fisiologici complessi con le piante, promuovendone lo sviluppo ed inducendo resistenza localizzata e sistemica (Harman et al., 2004).

Trichoderma

I funghi rizosfera-competenti del genere *Trichoderma*, da tempo noti per il biocontrollo dei fitopatogeni, sono di particolare interesse per la loro capacità di stabilire interazioni simbiotiche a livello dell'apparato radicale e di esercitare, quindi, un effetto di promozione della crescita (biofertilizzante) e di attivazione delle difese naturali delle piante nei confronti di stress biotici (biopesticida). Nonostante il loro notevole interesse per l'agricoltura biologica e a basso *input*, restano ancora da indagare i meccanismi attivati da *Trichoderma* e il ruolo del genotipo della pianta ospite nell'interazione con il fungo benefico. Appartenenti ai *Deuteromycetes*, i funghi del genere *Trichoderma* costituiscono un esempio classico di funghi ubiquitari e sono presenti in natura in tutti i suoli, caratterizzati da notevole velocità di crescita, alta produzione di conidi, elevata adattabilità e produzione di metaboliti ed enzimi litici (cutinasi e beta-1,3-glucanasi). Nella maggior parte dei casi, i *Trichoderma* presentano un micelio fioccoso, i conidiofori possono essere prodotti dalla colonia in modo diffuso, a ciuffi o raccolti in pustole compatte, comunemente distribuite in anelli concentrici dalle tipiche sfumature verdi, raramente bianche, grigie, biancastre o marroni (Figura 29).



Figura 29 Colture di *Trichoderma* spp

In alcune specie di *Trichoderma* (es. *T. harzianum*), i conidiofori sono costituiti da un asse centrale su cui si alternano, ad intervalli regolari, ramificazioni laterali a loro volta caratterizzate da ramificazioni secondarie che diventano, via via, sempre più corte quanto più si avvicinano all'apice, dando luogo ad una struttura piramidale (Figura 30).

In altre specie, invece, le ramificazioni non sono così regolari, ma solitarie o opposte, e con ramificazioni secondarie scarse. Solitamente, le ramificazioni dei conidiofori terminano con una o più fialidi (ife conidiogene) che possono essere di forma cilindrica, subglobosa o ampolliforme. In alcuni casi, le fialidi

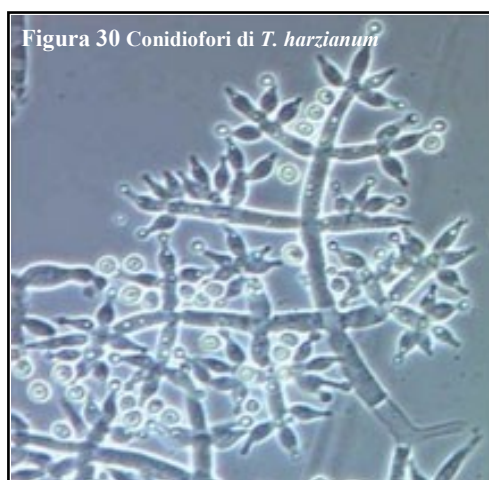


Figura 30 Conidiofori di *T. harzianum*

possono essere raggruppate sull'asse principale (es. *T. polysporum* (Link) Rifai, *T. hamatum* (Bon.) Bain) oppure essere solitarie e disposte irregolarmente (es. *T. longibrachiatum* Rifai). I conidi sono monocellulari, di forma ellissoidale, subglobosa, allungata ed in alcuni casi cilindrica, generalmente verdi anche se per alcuni isolati possono presentarsi incolori, grigi o marroni (Figura 31).

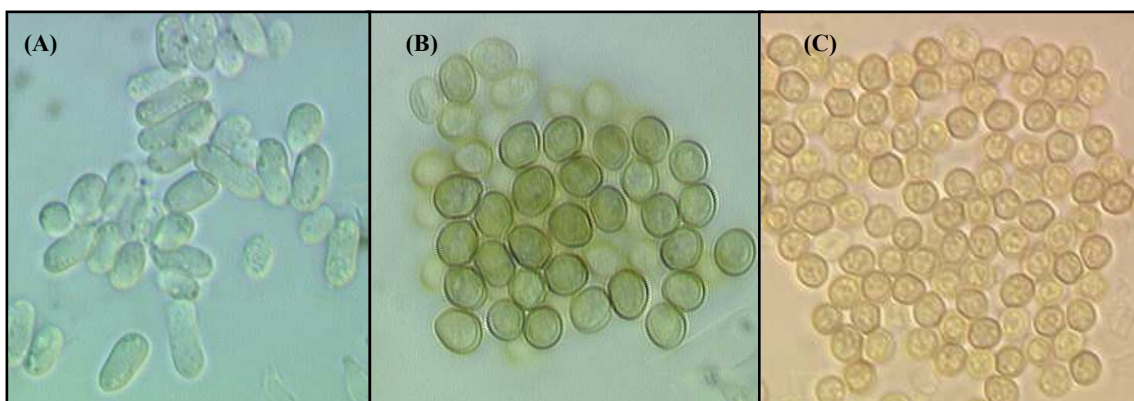


Figura 31 Conidi di forma ellissoidale (A), subglobosa (B) e globosa (C) di *T. citrinoviride* Bissett, *T. asperellum* Samuels, Lieckf. et Nirenberg, *T. aggressivum* Samuels & W. Gams, rispettivamente.

Tutte le specie producono clamidospore unicellulari subglobose in posizione intercalare o terminale lungo le ife. Cosmopoliti e ubiquitari nel terreno e sul legno in decomposizione, oltre che comuni colonizzatori di sostanza organica vegetale, i *Trichoderma* risultano largamente diffusi in natura, grazie anche alla loro attitudine a sopravvivere in diverse condizioni climatiche. Basti pensare che quasi tutti i suoli dell'area temperata e tropicale contengono circa 10^1 - 10^3 propaguli/g di terreno (Samuels, 1996; Harman et al., 2004). Ciò è attribuibile alle versatili capacità metaboliche ed alla natura competitiva di molte delle specie appartenenti a questo genere (Gams e Bissett, 1998).

Lotta biologica e miglioramento del benessere della pianta con *Trichoderma* spp.

Le potenzialità del genere *Trichoderma* come possibili agenti biologici di controllo di funghi fitopatogeni furono riconosciute per la prima volta nel 1932 da Weindling (1934). Egli osservò che alcuni isolati di *T. lignorum* (*T. viride*) (Tode) Harz erano in grado di parassitizzare in coltura funghi fitopatogeni del terreno, come *Rhizoctonia* spp. e *Sclerotinia* spp., e propose di arricchire il terreno con questi micoparassiti per ridurre l'incidenza delle malattie da essi causate. Il lavoro di Weindling stimolò numerose successive ricerche sull'argomento, che nel tempo hanno portato all'uso di diverse specie appartenenti a questo genere come biopesticidi, biofertilizzanti e ammendanti del terreno (Harman, 2000; Harman et al., 2004).

Trichoderma spp. è in grado di contrastare l'azione di isolati fitopatogeni attraverso molteplici, sinergici e complessi meccanismi d'azione (Benitez et al., 2004), ancora oggi non del tutto conosciuti:

- Competizione per i nutrienti (COMPETIZIONE)
- Parassitismo (MICOPARASSITISMO)
- Produzione di metaboliti ed enzimi (ANTIBIOSI)
- Azione su pianta: stimolo allo sviluppo radicale o induzione di resistenza ai patogeni
- Occupazione di spazio nella rizosfera

Per tali ragioni i *Trichoderma* spp. possono essere considerati, in rapporto alle complesse relazioni ecologiche che stabiliscono con le piante, come organismi simbionti avirulenti e opportunisti (Harman et al., 2004). L'impiego di questi funghi antagonisti, sia per la limitata disponibilità di isolati con azione mirata nei confronti di specifiche malattie e sia per l'efficacia raramente equivalente a quella dei fungicidi di sintesi (Vurro e Gressel, 2006), viene per lo più associato all'impiego di fitofarmaci in programmi di lotta integrata (Ruocco et al., 2009).

Sono ancoracarenti alcune conoscenze di base necessarie per la registrazione di biofungicidi contenenti *Trichoderma* spp. come principio attivo, inclusa una insufficiente conoscenza dei meccanismi d'azione e della compatibilità d'uso con altri BCA (Vurro e Gressel, 2006). Il

chiarimento dei meccanismi d'azione a livello fisiologico e molecolare, l'aumento dell'efficacia, il miglioramento della compatibilità con altri mezzi (chimici e/o biologici) di lotta e la messa a punto di processi tecnologici efficienti per la produzione e la formulazione di biomasse di *Trichoderma* spp. sono oggi le principali sfide nei settori della ricerca e dello sviluppo di biofungicidi a base di *Trichoderma*.

Meccanismi d'azione DIRETTI

E' nota la capacita di diverse specie e ceppi del genere *Trichoderma* di produrre un'ampia gamma di metaboliti tossici con attività antibiotica, molti dei quali sono stati caratterizzati da un punto di vista chimico e biologico. Tali composti possono essere raggruppati, a seconda delle caratteristiche chimico-fisiche in tre categorie: antibiotici volatili, antibiotici non volatili e peptaiboli (Vinale et al., 2008 and 2009) (Figura 32).

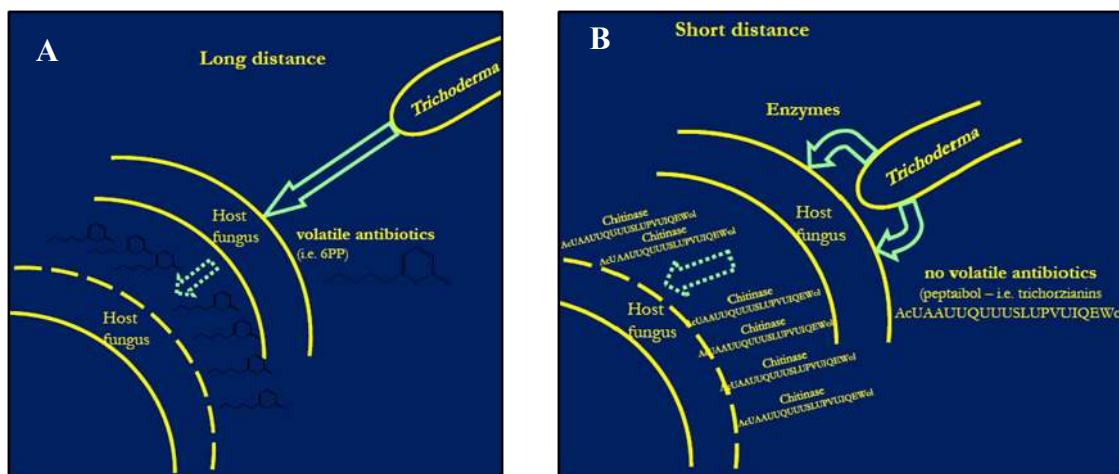


Figura 32 Esempio di antibiosi con meccanismo d'azione a lunga distanza e rilascio di antibiotici volatili (A) e a breve distanza con rilascio di antibiotici non volatili (B).

Tra i metaboliti con attività antifungina maggiormente studiati vi sono il 6-pentil- α -pirone (6PP), responsabile del caratteristico odore di cocco di *Trichoderma*, l'harzianolide, la gliovirina, la

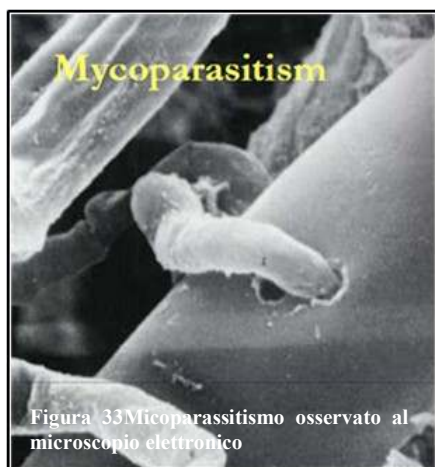


Figura 33 Micoparassitismo osservato al microscopio elettronico

gliotossina, la viridina, ma anche i terpeni, derivati isocianidici e, tra i peptaiboli, le alameticine, 1 e 2, e la trichotossina, A40 e A50. Il ruolo dell'antibiosi nel biocontrollo da parte di *Trichoderma* è stato oggetto di numerosi studi che hanno chiarito l'implicazione di questo processo nel controllo di alcuni agenti fitopatogeni.

Oltre ad avere azione diretta, le molecole dotate di attività antimicrobica prodotte da *Trichoderma* possono agire in sinergia con altri fattori prodotti dallo stesso microrganismo, contribuendo a rendere il biocontrollo più efficace (Woo et al., 2002). Questo fenomeno è stato messo in luce con particolare chiarezza nelle fasi che caratterizzano il complesso processo del micoparassitismo esercitato da *Trichoderma* spp (Figura 33).

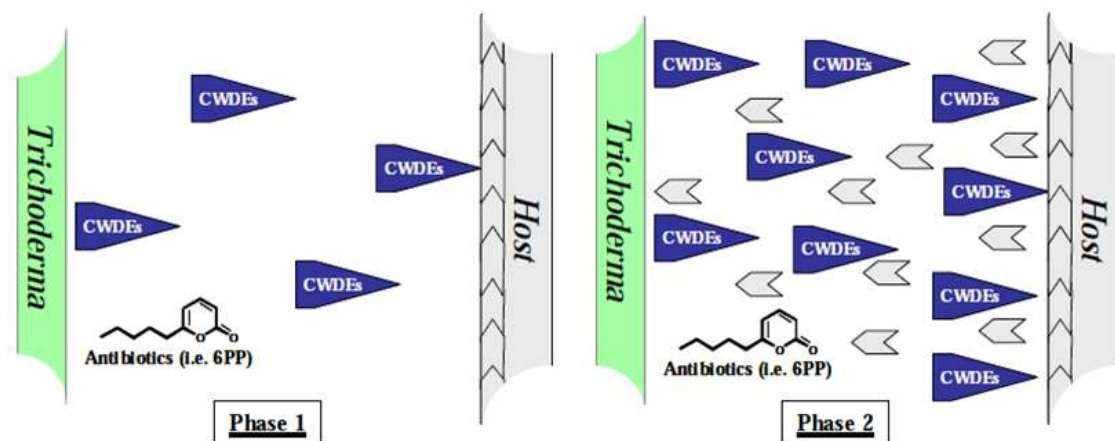


Figura 34 Fase 1: Il trichoderma rilascia gli enzimi litici che raggiungono la cellula ospite; Fase 2: i prodotti a basso peso molecolare rilasciati dalla cellula ospite raggiungono il trichoderma e attivano il rilascio di altri CWDE e l'espressione di

La simultanea produzione di sostanze antibiotiche e di enzimi idrolitici, oltre all'azione di proteasi fungine, rappresenta l'elemento chiave dell'intero processo. Infatti, *Trichoderma* è in grado di avvertire la presenza del fungo bersaglio e di sovra-regolare la produzione costitutiva di enzimi degradativi della parete cellulare fungina (Cell Wall Degrading Enzymes, CWDE), i quali avviano la cascata di eventi successivi. I CWDE catalizzano il rilascio di oligomeri dalla parete del fungo bersaglio che, a loro volta, inducono nell'antagonista l'espressione di endochitinasi ed altri CWDE in grado di attaccare le pareti del fungo ospite prima dell'effettivo contatto fisico (Zeilinger et al., 1999; Viterbo et al., 2002) (Figura 34). Dopo l'avvolgimento delle proprie ife attorno a quelle del patogeno, vi è un ulteriore rilascio di elevate quantità di CWDE, soprattutto chitinasi e glucanasi, che degradano la parete cellulare del fungo parassitizzato, causandone la morte (Figura 35).

In questo complesso processo anche altri composti

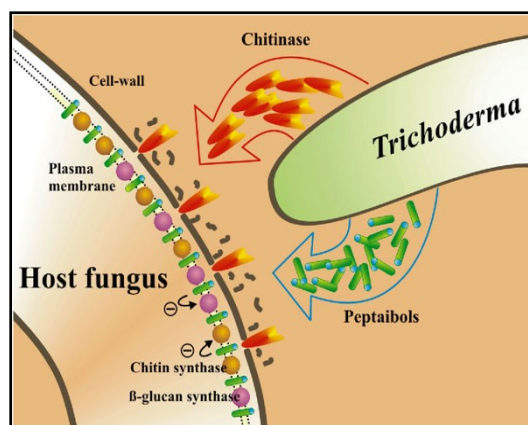


Figura 35 Danneggiamento della membrana del microrganismo patogeno da parte di trichoderma

con attività antifungina, come gli antibiotici prodotti dall'antagonista, hanno un ruolo chiave. Infatti, il drammatico effetto inibitorio a carico del patogeno sembrerebbe essere proprio dovuto alla sinergia d'azione tra enzimi e antibiotici, piuttosto che all'azione esclusiva dei CWDE. Un modello funzionale dell'azione sinergica di CWDE e antibiotici peptaibolici è stato proposto da Kubicek et al. (2001). Secondo tale modello, i CWDE degradano la parete del fungo bersaglio e ne riducono la rigidità, facilitando così l'accesso dei peptaiboli alla membrana cellulare. I peptaiboli hanno la capacità di modificare la permeabilità delle membrane cellulari, compromettendone l'integrità e la

funzionalità. Una volta penetrati, i peptaiboli danneggiano la membrana cellulare del fungo bersaglio e inibiscono l'attività di enzimi di transmembrana (chitina-sintetasi e β -glucanosintetasi) deputati alla riparazione dei danni alla parete determinati dai CWDE, compromettendo la capacità riparatrice dell'ifa del fungo parassitizzato.

A supporto di tali osservazioni, vi sono diversi studi condotti in passato che hanno evidenziato cambiamenti nella permeabilità di membrana dell'ospite durante le interazioni micoparassitiche con *Trichoderma* spp. (Lewis e Papavizas, 1987).

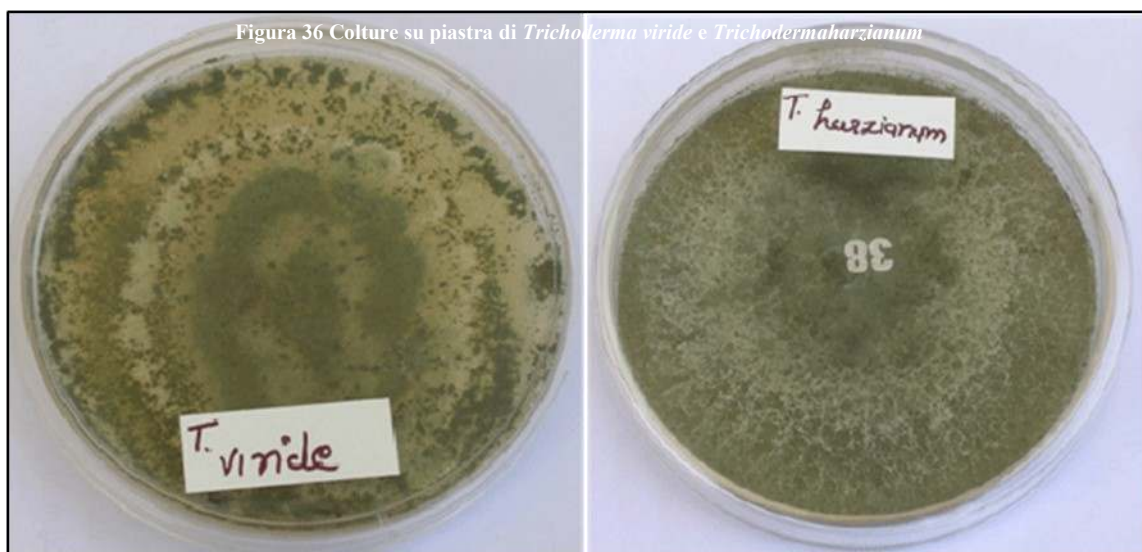
La competizione per spazio e nutrienti è un altro meccanismo d'azione attraverso cui *Trichoderma* esplica la sua attività di biocontrollo nei confronti di funghi fitopatogeni (Ozbay e Newman, 2004). Tale capacità risulta strettamente legata all'elevata adattabilità ecologica e alla versatilità metabolica di *Trichoderma*, proprietà che conferiscono a questi funghi un vantaggio in termini di efficienza di colonizzazione di differenti nicchie ecologiche e di utilizzazione di diversi substrati. Basti pensare che questi funghi sono residenti nei suoli di tutto il mondo, anche sottoposti a condizioni ambientali estreme. Quest'ultimo aspetto è legato alla capacità di *Trichoderma* di persistere come clamidospore e conidi, in condizioni distress da carenza di nutrienti (Gams e Bisset, 1998). Pertanto, la rapida velocità di crescita, l'abbondante produzione di conidi dotati di elevata persistenza ed un'ampia versatilità nell'utilizzo dei substrati, fanno di *Trichoderma* un efficace competitore, in grado di sfruttare le risorse disponibili sia come colonizzatore primario, che come colonizzatore secondario di risorse già occupate da altri microrganismi (Cooke e Rayner, 1984). La competizione dei *Trichoderma* nei confronti degli altri microrganismi può interessare l'accaparramento di nutrienti derivanti da tessuti già colonizzati dai patogeni, come nel caso del biocontrollo di *Botrytis* spp. e *Sclerotinia* spp., oppure l'utilizzo degli essudati radicali delle piante e dei semi germinanti, come accade nel biocontrollo di *P. ultimum*. Inoltre, la capacità di alcuni isolati di *Trichoderma* di competere per spazio e nutrienti è strettamente correlata all'abilità di alcuni ceppi di colonizzare prima, e poi svilupparsi, sull'apparato radicale delle piante, inducendo in alcuni casi anche un miglioramento della crescita, dell'architettura e dell'efficienza delle radici (Ozbay e Newman, 2004). Tale qualità, definita competenza per la rizosfera (*rhizosphere competence*), può risultare cruciale per rendere massima l'espressione dell'attività biologica di un antagonista (Sivan e Harman, 1991; Harman et al., 2004).

Meccanismi d'azione INDIRETTI

In realtà, quando si esaminano i meccanismi d'azione dei *Trichoderma* non ci si può limitare ai meccanismi basati sulla diretta interazione con il patogeno, ma è necessario considerare anche l'interazione dell'antagonista con la pianta. Infatti, l'efficacia del biocontrollo non è attribuibile solo al diretto effetto antagonistico esercitato dai *Trichoderma* verso i patogeni ma è il risultato delle complesse interazioni che si verificano tra antagonista, patogeno e ospite vegetale. Recenti

studi hanno dimostrato la capacità di isolati di *Trichoderma* spp. di indurre cambiamenti traslocazione di molti micronutrienti, come arsenico, cobalto, cadmio, cromo, nickel, piombo, boro, vanadio, magnesio, manganese, rame, zinco, alluminio, rame e sodio (Harman et al., 2004). Questi microelementi, sebbene richiesti in quantità molto ridotte, sono necessari per processi biochimici essenziali e la loro carenza può determinare scompensi fisiologici che si traducono in ridotta produttività e aumentata suscettibilità alle malattie.

Diversi isolati di *Trichoderma* spp., per la maggior parte appartenenti alle specie *Trichoderma harzianum* e *Trichoderma viride*, sono risultati efficaci BCA di funghi patogeni del suolo. Il *Trichoderma harzianum* agisce principalmente per competizione sia di nutrienti che dello spazio nei confronti della Muffa Grigia (Figura 36).



Il *Trichoderma harzianum* si alimenta delle sostanze (essudati, zuccheri, ecc.) che sono presenti sul vegetale e che sono fondamentali per l'attività del fungo antagonista, sottraendo, così, sia

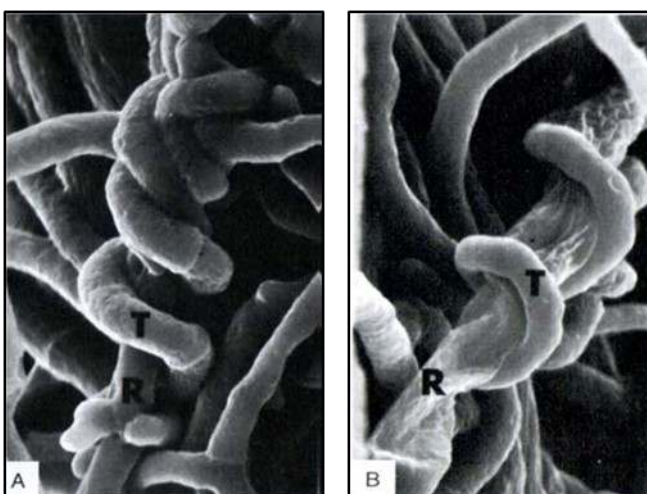


Figura 37 Immagini al microscopio elettronico del micoparassitismo da parte di *Trichoderma harzianum* (T) su *Rhizoctonia solani* (R): Effetto della parassitizzazione dopo 2 giorni (A) e dopo 6 giorni (B)

spazio che nutrienti per il suo sviluppo. Una questione, ancora aperta e fortemente dibattuta in questi ultimi anni, riguarda i meccanismi attivati dai *Trichoderma* per prevenire l'autointossicazione, difendendosi dalla complessa miscela di composti antifungini secreti da esso stesso durante l'attività antagonistica (Figura 37).

Una delle ipotesi più accreditata per spiegare questo fenomeno fa riferimento alla produzione di inibitori dei propri enzimi litici. A tal proposito, Lora e colleghi (1994) (Lora et al., 1994) hanno rilevato la produzione di inibitori di

chitinasi rilasciati simultaneamente ai CWDE. Questo meccanismo potrebbe spiegare l'alto livello di resistenza mostrato da *T. harzianum* nei confronti di alcune sue endochitinasi purificate (Lorito et al., 1993).

Per quanto riguarda il *Trichoderma viride* (Figura 38), il suo micelio produce numerose cellulasi e chitinasi che degradano, rispettivamente, la cellulosa e la chitina della cellula ospite. Dunque, il *Trichoderma viride* può crescere direttamente sia sul legno (ricco di cellulosa) che sui funghi (ricchi di chitina) e parassitizza il micelio e i corpi fruttiferi dei micoparassiti e dei funghi coltivati.



Figura 38 *Trichoderma viride*

CAPITOLO 4

La sperimentazione con *Trichoderma* spp.

Le necessità, sorte nella coltivazione e nella produzione di limoni IGP Costa d'Amalfi secondo i metodi stabiliti dal disciplinare e secondo le disposizioni in materia di agricoltura biologica, hanno portato l'attenzione sull'utilizzo di *Trichoderma* per migliorare il benessere delle stesse piante e, quindi, incrementare le loro “difese immunitarie” verso i più comuni patogeni dell'agrumicoltura e della limonicoltura in particolare.

Le attività sono state svolte nel Comune di Tramonti (SA), zona di produzione del Limone IGP Costa d'Amalfi, nel campo identificato dal foglio 20 particella 1304, di proprietà del Dott. Giuliano Giorgio (Figura 39).

Il campo ha un'estensione di 0,1 ha ed è destinato alla coltivazione di limoni, con densità di impianto di 800 piante per ha (come previsto dal disciplinare di produzione dei limoni IGP Costa d'Amalfi). La sperimentazione ha riguardato solo metà degli ha rientranti nella particella (circa 500 m²), mentre la restante parte, in cui sono praticate solo le normali buone pratiche agricole, è stata utilizzata come controllo.

Materiali e metodi

Il campo rientrante nella particella 1304 foglio 20 è stato delimitato ed al suo interno è stata realizzata la suddivisione delle piante da sottoporre a sperimentazione e di controllo. Le piante a loro volta sono state numerate.

È stato utilizzato il formulato Trianum-G (Koppert B.V.), un agrofarmaco biologico a base di *Trichoderma harzianum* Rifai(1%). Il trianum-G è un biofungicida granulare per la protezione preventiva delle piante contro i patogeni dell'apparato radicale.

La sperimentazione ha avuto durata biennale ed ha riguardato 40 delle 80 piante nella particella, mentre le restanti sono state utilizzate come controllo.

Sono state effettuati tre trattamenti annuali, in corrispondenza alle tre fasi di fioritura del limone. Il formulato Trianum-G, nella dose di 32,5 g per pianta, è stato incorporato al terreno nell'area sottostante la chioma, distribuendolo uniformemente mediante irrigazione.

Le attività di monitoraggio sono state condotte, su tutte le piante trattate e di controllo, a cadenza trimestrale, tramite compilazione di schede di valutazione (Tabella 1), nelle quali sono stati registrati parametri relativi al benessere della pianta e alle dimensioni del frutto. I parametri analizzati sono stati sei:

1. Stato generale della pianta
2. Densità della chioma
3. Colore e stato delle foglie
4. Presenza di sintomi patologici su fusto e ramificazioni
5. Colore e stato del frutto
6. Presenza di sintomi patologici sul frutto.

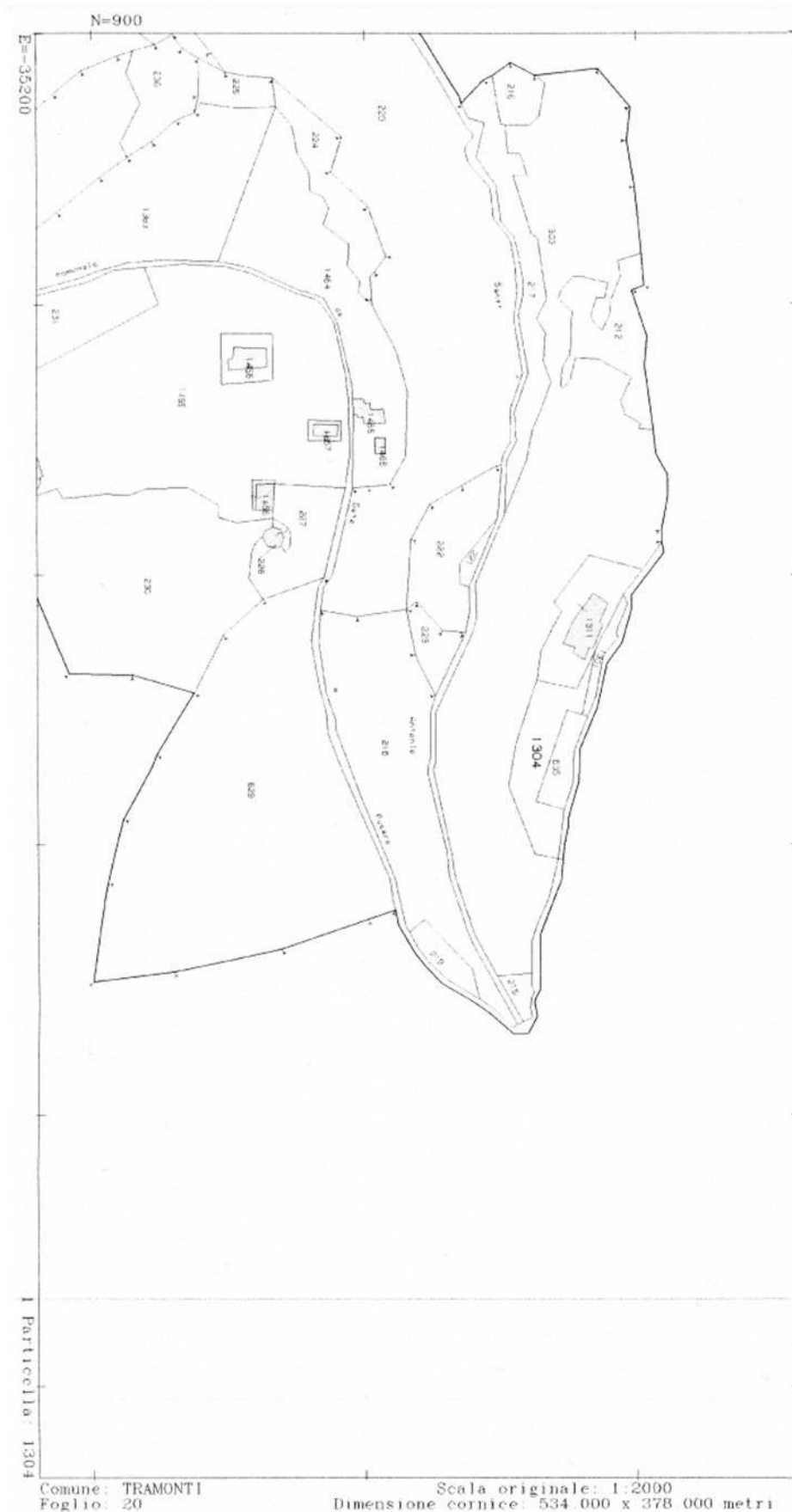


Figura 39 Comune di Tramonti (SA) Foglio 20 Particella 1304

Tabella 1 Esempio di scheda di valutazione

Pianta n. _____	data <u> </u> / <u> </u> / <u> </u>			
Scheda di Valutazione trimestre				
	Valori			
Parametri	1	2	3	4
Stato generale della pianta				
Densità chioma				
Colore e stato delle foglie				
Presenza sintomi patologici su fusto e ramificazioni				
Colore e stato del frutto				
Presenza sintomi patologici sul frutto				

Leggenda	
1	Insufficiente
2	Sufficiente
3	Buono
4	Ottimo

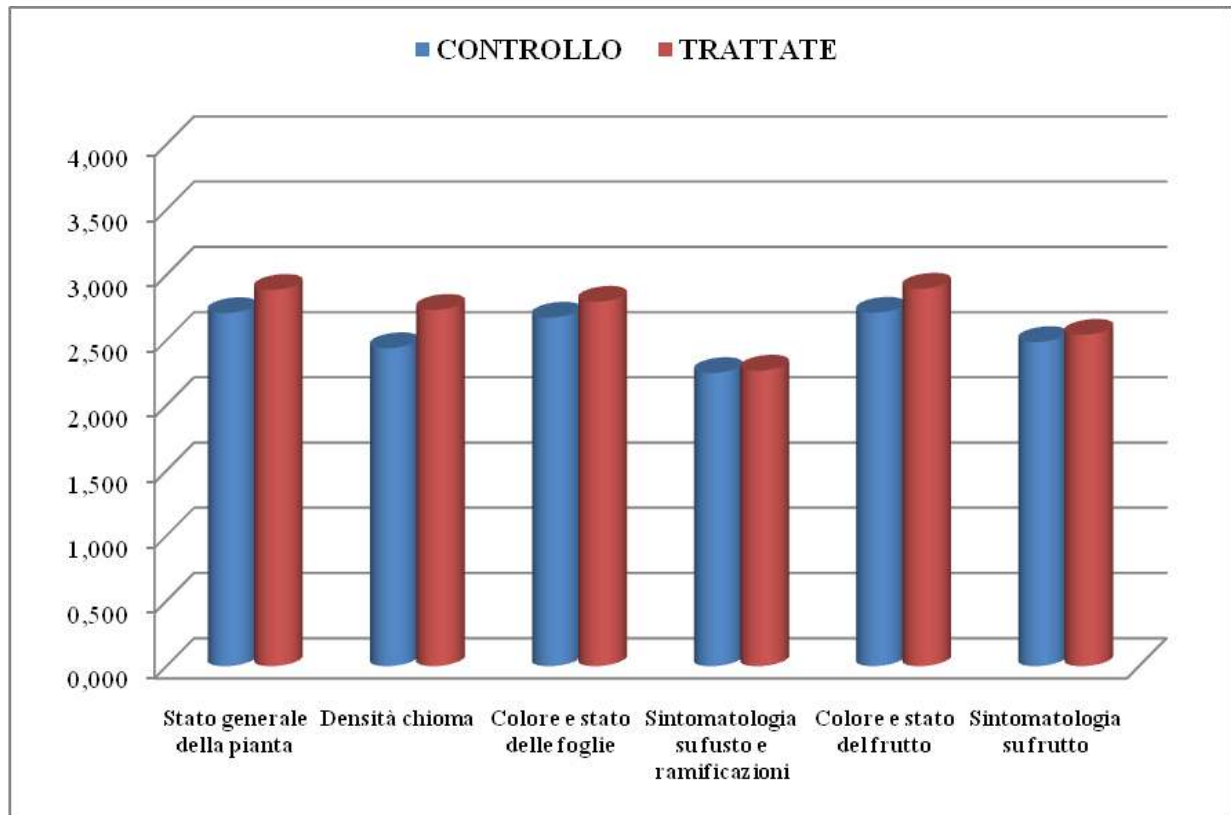
Lo scopo del monitoraggio è stato evidenziare eventuali differenze nello stato di benessere delle piante e verificare l'efficacia di trattamenti con *Trichoderma* in limonicoltura.

Risultati

I risultati ottenuti dalle attività di monitoraggio sono stati espressi come media aritmetica dei valori registrati in fase di valutazione sul campo.

Come mostrato nel Grafico 1, nell'arco dei due anni di sperimentazione, si ha un aumento del benessere generale delle piante di limone trattate con *Trichoderma*, rispetto alle piante destinate al controllo.

Grafico 1 Elaborazione dati di sperimentazione



I Grafici 2 – 7 mostrano l’andamento dei singoli parametri analizzati nell’arco del biennio di sperimentazione.

Grafico 2 Andamento del parametro “Stato generale della pianta”

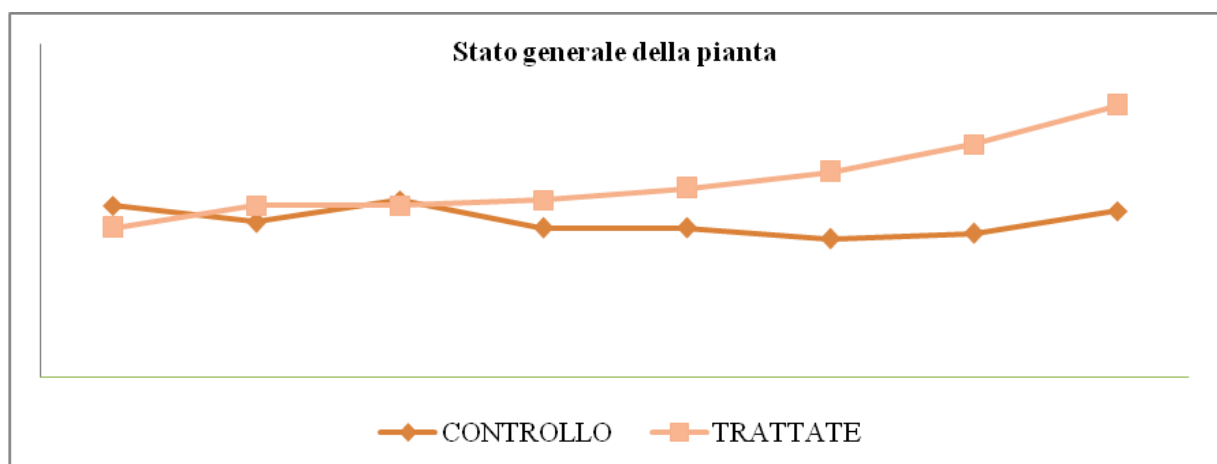


Grafico 3 Andamento del parametro "Densità della chioma"

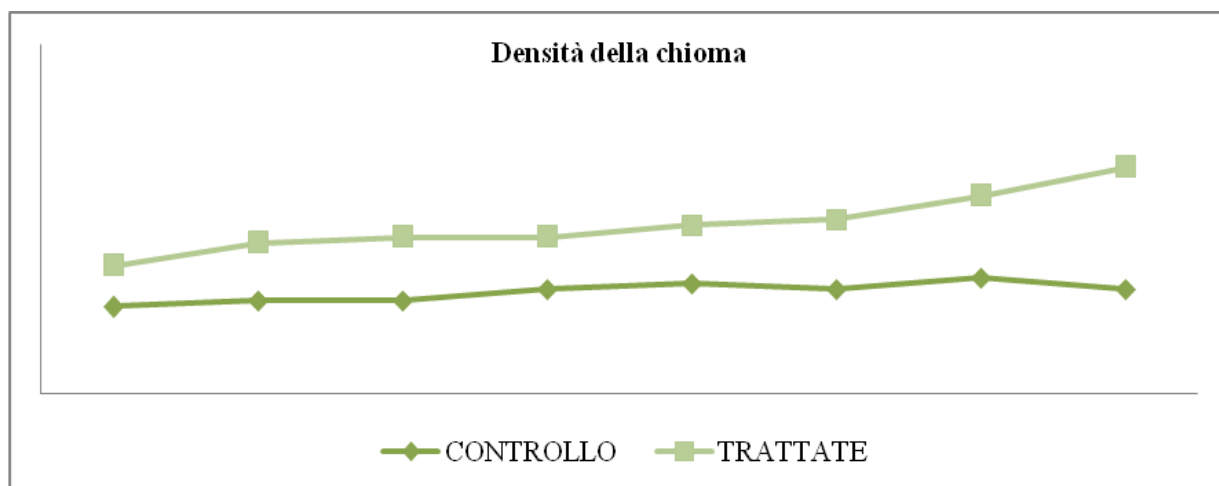


Grafico 4 Andamento del parametro "Colore e stato delle foglie"

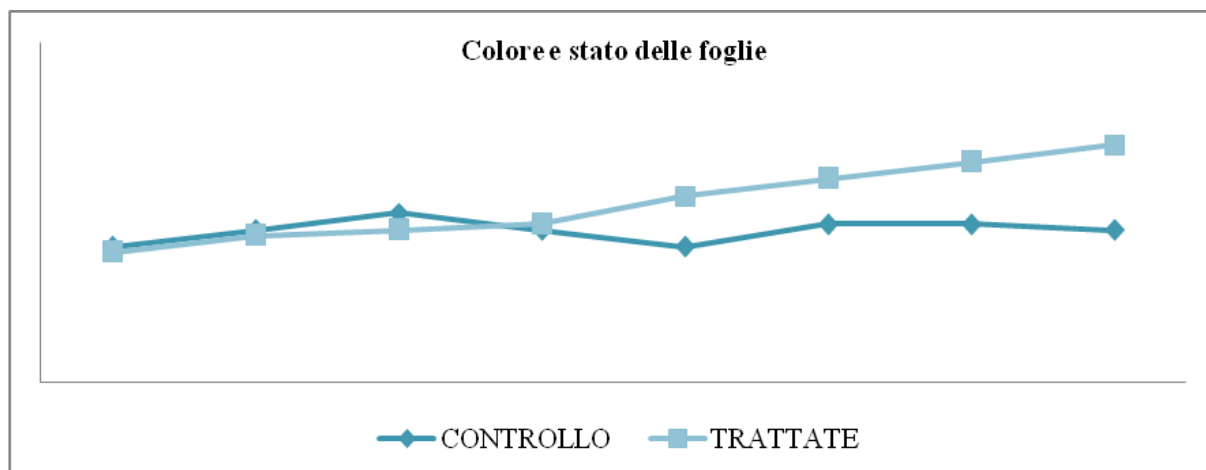


Grafico 5 Andamento del parametro "Presenza di sintomi patologici su fusto e ramificazioni"

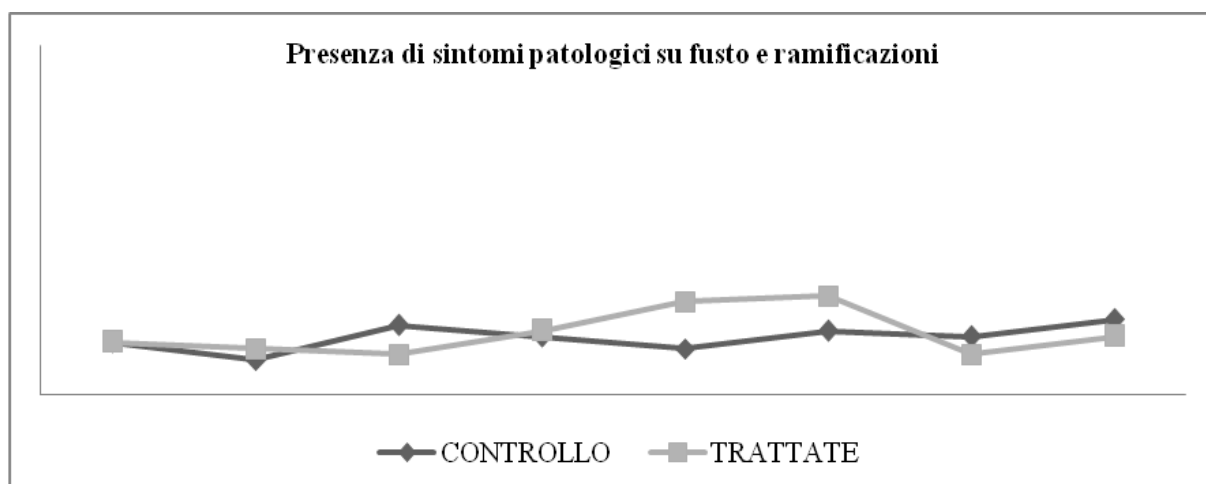


Grafico 6 Andamento del parametro “Colore e stato del frutto”

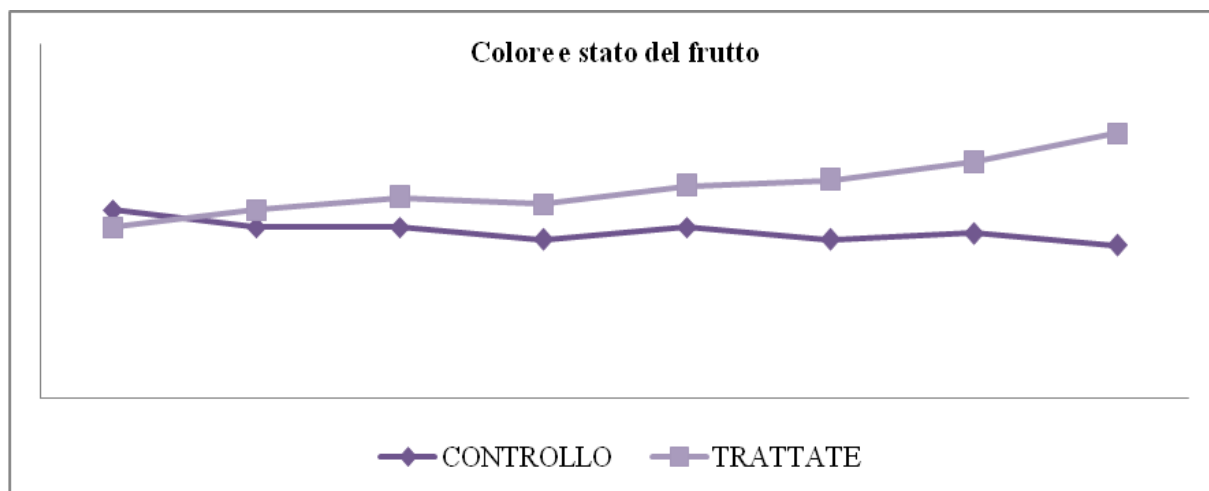
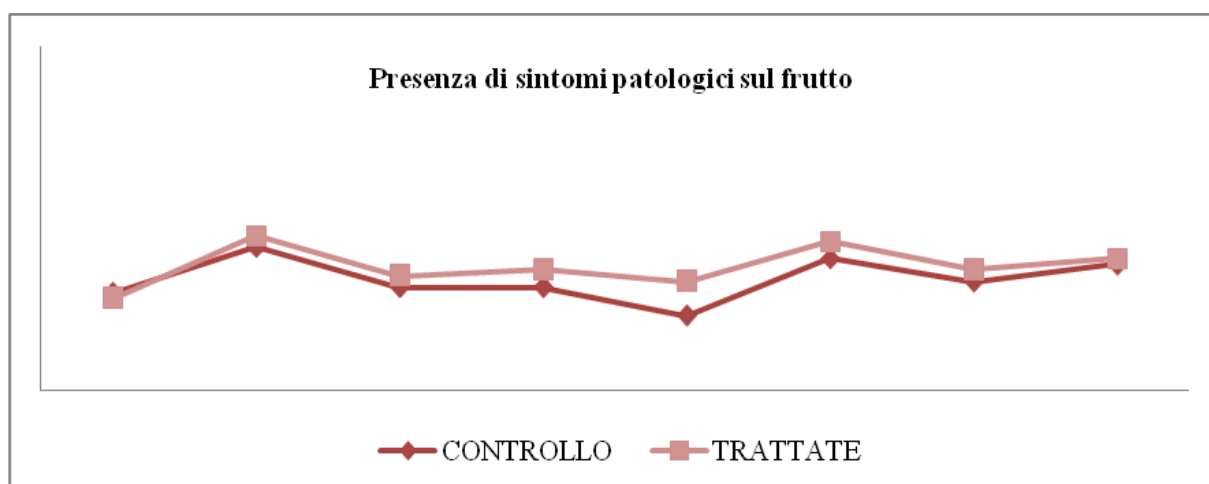


Grafico 7 Andamento del parametro “Presenza di sintomi patologici sul frutto”



I parametri registrati e sottoposti a monitoraggio mostrano, tendenzialmente, una comune tendenza al miglioramento delle proprie caratteristiche, in presenza di trattamento con *Trichoderma*. Le piante, infatti, si mostrano sensibilmente più sane, con aspetto generale migliore, chioma più folta, foglie più verdi e frutti più uniformi.

È possibile notare un discostamento, dall'andamento generale di miglioramento, registrato dai parametri “Presenza di sintomo patologici su fusto e ramificazioni” e “Presenza di sintomi patologici sul frutto”, che risultano essere costanti nell'arco temporale analizzato e tra le piante di controllo e quelle trattate.

Tali risultati mostrano come il *Trichoderma* non agisca, nei tempi della sperimentazione condotta, direttamente sui patogeni del limone, ma vada ad interagire con l'intero sistema pianta, rendendolo più resistente e reattivo agli attacchi degli stessi, portando ad un miglioramento del benessere generale.

Conclusioni

La limonicoltura è una risorsa agricola di fondamentale importanza per la regione Campania e, in particolare, per la Costiera Amalfitana. La sua salvaguardia e il suo sviluppo, nel rispetto di un'agricoltura biosostenibile e biocompatibile, rappresentano gli obiettivi delle azioni di ricerca.

L'attenzione sull'utilizzo del *Trichoderma* in altri ambiti agricoli e i risultati positivi ottenuti nelle altre colture hanno portato a valutare le possibili ricadute positive anche sulla limonicoltura.

La sperimentazione descritta ha avuto come obiettivo lo studio preliminare dell'azione di *Trichoderma* spp. nella gestione dei limoneti, valutando la risposta delle piante al suo utilizzo come biofertilizzante.

Gli incoraggianti risultati ottenuti nel miglioramento del benessere generale della pianta di limone, nel territorio della Costiera Amalfitana, nel corso dei due anni di sperimentazione hanno avvalorato la tesi posta alla base del progetto iniziale.

Essendo l'arco temporale impiegato per la sperimentazione descritta non sufficiente per la valutazione degli effetti del *Trichoderma* sulla lotta ai patogeni del limone (in particolare a carico delle crittogame), sarà necessario implementare le attività di successive sperimentazioni.

A cura di:

Dott. Per. Agr. Davide Della Porta

Dott.ssa Ing. Sonia Raimo

Dott.ssa Chimico Erika Della Porta

Dott.ssa Biologo Valentina De Vito

Dott. Per Agr. Simona Carpenito

Dott. Biologo Giorgio Giuliano

Si ringrazia per la collaborazione il Consorzio di Valorizzazione del Limone della Costa d'Amalfi (Co.Va.L.) e il Presidente del Co.Va.L., il Dott. Giorgio Giuliano.

BIBLIOGRAFIA e SITOGRAFIA

Giuliano G. (2001), Il limone e la costa d'Amalfi, Regione Campania – Assessorato Agricoltura, Progetto cofinanziato dalla CEE – Consistente nella promozione e nella valorizzazione del limone costiera amalfitana, grafica Metelliana, 2001.

www.agricoltura.regione.campania.it

Poiana M.; Mincione B.; Rapaccuolo M.; Di Matteo M. (1999). Valutazione alla produzione di infusi alcolici da parte di varietà di limone presenti nella penisola sorrentina. Caserta, 9-10 settembre 1999 Pag.994-1001.

Gazzetta Ufficiale Serie generale n. 93 del 20.04.2000

Briganti G. (1912), La coltivazione degli agrumi in provincia di Salerno, Bari 1912.

Regione Campania, Assessorato all'Agricoltura, Foreste, Caccia e Pesca. (2001), “Piano di Sviluppo Rurale 2000-2006, Allegato: Definizione delle Normali Buone Pratiche Agricole”, Gennaio 2001.

www.sito.regione.campania.it

Aldo Pollini (2013) Entomologia Applicata, Edagricole-New Business Media, Settembre 2013.

Caleca V. (2000) Assessment of damage due to *Phyllocnistis citrella* Stainton in citrus nurseries in Sicily; growth delay, esthetical damage and economic injury levels. Proc. 21st Int. Congr. Ent., Brazil, August 20-26/2000: 666.

Longo S., Suma P. (2013), Gli Agrumi, Sez. Coltivazione, Cap. Parassiti animali, Coltura&Cultura.it.

Bolton H. et al. (1992). Microbial ecology of the rhizosphere. In: F. B. Metting, Jr. (ed.), Soil microbial ecology. Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y. p. 27–63.

Bowen GD and Rovira AD. (1999). The rhizosphere and its management to improve plant growth. Adv. Agron. 66:1–102.

Whipps J. M., Lumsden R. D. 2001. Commercial use of Fungi as Plant disease Biological Control Agents: Status and prospects. In: Butt T. M., Jackson C. W., Magan N. (ed.). Fungi as Biocontrol Agents. Progress, Problems and Potential. CAB International Publishing, Wallingford, UK. 9-22.

Matta, 1996. Fondamenti di Patologia vegetale. Patron Editore, Bologna, IT. 1-496.

Deacon J. W. 1997. Modern mycology. 3rd ed. Blackwell Science Publ., Oxford, UK. 1-303.

Baker e Cook, 1974. Biological Control of Plant pathogens. Freeman & Co Publishing, San Francisco, USA. 1-433.

Benitez et al., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*. 7(4): 249-260.

Vinale et al., 2008. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*. 40: 1–10.

Elad et al., 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal of Microbiology*. 28: 719– 725.

Woo e Lorito, 2007. Exploiting the interactions between fungal anatagonists, pathogens and the plant for biocontrol. In: Vurro M., Gressel J. (ed.). *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management*. IOS, Springer Press, Amsterdam, the Netherlands. 107-130.

DosReisAlmeida et al., 2007. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. *Biotechnology Letters*. 29: 1189–1193.

Kendrick, 1992. *The Fifth Kingdom* 2nd edition. Mycologue Publ., Waterloo, Ont., CDN. 1-371.

Cook e Baker, 1983. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. American Phytopathological Society. St.Paul, MN, USA. 1-539.

Howell et al., 1983. Gliovirin a new antibiotic from *Gliocladium virens* and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Canadian Journal of Microbiology*. 29: 321-324.

Simon et al., 1988. *Trichoderma koningii* produces a pyron compound with antibiotic properties. *Soil Biology and Biochemistry*. 20: 263-264.

Dunlop et al., 1989. An antibiotic from *Trichoderma koningii* active against soilborne plant pathogens. *Journal of Natural Products*. 52: 67-74.

Harman, 2000. Myths and dogmas of biocontrol: changes in perceptions derived from research of *Trichoderma harzianum* T22. *Plant Disease*. 84: 377-393.

Fravel, 1988. Role of antibiosis in the biocontrol of Plant Disease. *Annual Review of Phytopathology*. 26:75-91.

Weller, 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*. 26: 379– 407.

Wilhite et al., 1994. Mutational analysis of gliotoxin production by the biocontrol fungus *Gliocladium virens* in relation to suppression of *Pythium damping-off*. *Phytopathology*. 84: 816-821.

Faull, 1988. Competitive antagonism of soil-borne plant pathogens. In: Burge M. N. (ed.). *Fungi in Biological Control Systems*. Manchester University Press, Manchester, UK. 125-141.

Cook, 1988. Biological control and holistic plant-health care in agriculture. *American Journal of Alternative Agriculture*. 3: 51-62.

Van Wees et al., 2008. Plant immune responses triggered by beneficial microbes. *Current Opinion in Plant Biology*. 11(4): 443-448.

Lanzuise, 2005. Geni potenzialmente coinvolti nell'interazione *Trichoderma*-pianta e/o agente patogeno. Tesi di Dottorato in Agrobiologia e Agrochimica. XVII ciclo. Facoltà di Agraria. Università degli Studi di Napoli "Federico II", Napoli, IT.

Harman et al., 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbiont. *Nature Reviews Microbiology*. 2: 43-56.

Kothari e Patel, 2004. Plant immunization. *Indian Journal of Experimental Biology*. 42(3): 244-252.

Walters e Daniell, 2007. Microbial induction of resistance to pathogens. In: Walters D., Newton A., Lyon G. (ed.). *Induced Resistance for Plant Defence*. Balckwell Publishing, UK. 143-152.

Berg, 2009. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 84 (1): 11-18.

Samuels, 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. *Mycological Research*. 100: 923-935.

Klein e Eveleigh, 1998. Ecology of *Trichoderma*. In: Harman G. E., Kubicek C. P. (ed.). *Trichoderma and Gliocladium* vol.1. Taylor & Francis Publishing, London, UK. 1: 57-74.

Gams e Bissett, 1998. Morphology and Identification of *Trichoderma*. In: Harman G. E., Kubicek C. P. (ed.). *Trichoderma and Gliocladium* vol.1. Taylor & Francis Publishing, London, UK. 1: 3-34.

Vurro e Gressel, 2006. An integrated European approach to biological control of plant diseases and weeds. In: Eilenberg J., Hokkanen H. M. T. (ed.). *An Ecological and Societal Approach to Biological Control*. Springer, The Netherlands. 257-274.

Ruocco et al., 2009. Identification of a new biocontrol gene in *Trichoderma atroviride*: the role of an ABC transporter membrane pump in the interaction with different plant-pathogenic fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactactions*. 22(3): 291-301.

Weindling, 1934. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology*. 24: 1153-1179.

- Vinale et al., 2009.** Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. Letters in Applied Microbiology. 48: 705–711.
- Woo et al., 2002.** Mycoparasitic *Trichoderma* strains are activated by host-derived molecules. In: Vannacci G., Sarrocco S. (ed.). Proc. 6th European Conference on Fungal Genetics. Edizioni Plus, Pisa, IT. 306.
- Zeilinger et al., 1999.** Chitinase gene expression during mycoparasitic interaction of *Trichoderma harzianum* with its host. Fungal Genetics and Biology. 26: 131-140.
- Viterbo et al., 2002.** Expression regulation of the endochitinase *chit36* from *Trichoderma asperellum* (*T. harzianum* T-203). Current Genetics. 42: 114-122.
- Kubicek C. P. et al., 2001.** *Trichoderma*: From genes to biocontrol. Journal of Plant Pathology. 83: 11-23.
- Lewis e Papavizas, 1987.** Permeability changes in Hyphae of *Rhizoctonia solani* induced by germing preparations of *Trichoderma* and *Gliocladium*. Phytopathology. 77(5): 699-703.
- Ozbay e Newman, 2004.** Biological control with *Trichoderma* spp. with emphasis on *T. harzianum*. Pakistan Journal of Biological Sciences. 7(4): 478-484.
- Cooke e Rayner, 1984.** Ecology of Saprotrophic Fungi. Longman Publishing, London, UK. 1-415.
- Sivan e Harman, 1991.** Improved rhizosphere competence in a protoplast fusion progeny of *Trichoderma harzianum*. Journal of General Microbiology. 137: 23-29.
- Harman, 2006.** Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. The American Phytopathological Society. 96(2): 191-194.
- Howell, 2003.** Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. Plant Disease. 87: 4-10.
- Altomare et al., 1999.** Solubilization of Phosphates and Micronutrients by the Plant-Growth-Promoting and Biocontrol Fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Applied and Environmental Microbiology. 65 (7): 2926-2933.
- Lora et al., 1994.** A putative catabolic repressed cell wall protein from the mycoparasitic fungus *Trichoderma harzianum*. Molecular and General Genetics. 242: 461-466.
- Lorito et al., 1993.** Synergistic interaction between fungal cell wall degrading enzymes and different antifungal compounds enhances inhibition of spore germination. Phytopathology. 140: 623–629.

edizioni oasis



edizioni oasis
